

ÉTUDE DU POUVOIR ANTHELMINTHIQUE DES AMMONIUMS  
QUATERNAIRES A ANIONS ORGANIQUES :

- série des triméthylacoylammonium à longue chaîne.
- série des alcoylpyridiniums à longue chaîne.

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS  
(Pharmacie)

*présentée et soutenue le 29 Janvier 1959*

PAR

**Madame HALLEY**

Jury : { MM. VALETTE, Président  
CAVIER, Professeur  
RENAULT, Maître de Conférences



ÉTUDE DU POUVOIR ANTHELMINTHIQUE DES AMMONIUMS  
QUATERNAIRES A ANIONS ORGANIQUES :

- série des triméthylacoylammonium à longue chaîne.
- série des alcoylpyridiniums à longue chaîne.

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS  
(Pharmacie)

*présentée et soutenue le 29 Janvier 1959*

PAR

**Madame HALLEY**

Jury: { MM. VALETTE, Président  
CAVIER, Professeur  
RENAULT, Maître de Conférences





# PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

## ADMINISTRATION

M. René FABRE, *Doyen*, Membre de l'Institut, C. ,  C.  
MM. JANOT, *Assesseur*, ,  I., G. CUVIER, *Secrétaire Général*, ,  I.  
M. L. JEANDEL, *Secrétaire*,  I.  
*Doyen Honoraire* : M. RADAIS, C. ,  C.

## PROFESSEURS HONORAIRES

MM. DELÉPINE, C. ,  I. et LEBEAU, C. ,  C., Membres de l'Institut.  
HÉRISSEY, C. ,  I.; LAUNOY, O. ,  I.; FLEURY, O. ,  I.;  
MASCRE, O. ,  I.; PICON, O. ,  I.

## PROFESSEURS

|                                                                                                                                                                                                              |                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| MM. FABRE, Membre de l'Institut, C.  ,  C. | Toxicologie (T.).                                                      |
| JANOT,  ,  I.                              | Pharmacie galénique (T.).                                              |
| VALETTE,  ,  I.                            | Pharmacodynamie (T.).                                                  |
| BEDEL,  ,  I.                              | Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T.).             |
| PARIS,  ,  I.                              | Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T.).    |
| GUILLOT,  ,  I.                            | Physique (T.).                                                         |
| GAUTIER,  ,  I.                            | Chimie organique (T.).                                                 |
| M <sup>lle</sup> LAMBIN,  ,  I.            | Microbiologie (T.).                                                    |
| MM. RAUL,  ,  I.                           | Zoologie appliquée (T.).                                               |
| COURTOIS,  ,  I.                           | Chimie biologique (T.).                                                |
| DOMANGE,  ,  I.                            | Chimie minérale (T.).                                                  |
| CRETE,  ,  I.                              | Botanique (T.).                                                        |
| TRUHAUT,  ,  I.                            | Toxicologie et Hygiène industrielle (T. P.).                           |
| MORETTE,  ,  I.                            | Hydrologie (T.).                                                       |
| CAVIER,  ,  I.                             | Parasitologie (T.P.).                                                  |
| QUEVAUVILLER,  ,  I.                       | Hygiène (T.).                                                          |
| MOREAU,  ,  I.                             | Chimie analytique (T.).                                                |
| GUY,  ,  A.                                | Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques (T.P.). |
| GERMAN,  ,  A.                             | Technique bactériologique.                                             |
| PIETTE,  ,  I.                             | Biologie sanguine.                                                     |
| N.....                                                                                                                                                                                                       | Pharmacie chimique (T.).                                               |

## MAITRES DE CONFÉRENCES

|                                                                                                                                                                                       |                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| MM. DEYSSON,  ,  A. | Cryptogamie.         |
| MALANGEAU,  ,  A.   | Biochimie.           |
| FLAHAUT.....                                                                                                                                                                          | Minéralogie.         |
| RENAULT.....                                                                                                                                                                          | Chimie organique.    |
| DILLEMANN.....                                                                                                                                                                        | Biologie végétale.   |
| GIRARD,  ,  A.      | Chimie analytique.   |
| LARUELLE.....                                                                                                                                                                         | Physique.            |
| LE MOAN.....                                                                                                                                                                          | Toxicologie.         |
| ROSSIGNOL.....                                                                                                                                                                        | Pharmacodynamie.     |
| N.....                                                                                                                                                                                | Pharmacie galénique. |
| N.....                                                                                                                                                                                | Pharmacie chimique.  |

## CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

|                                                                                                                                                                                                            |                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| MM. BORY.....                                                                                                                                                                                              | Sérologie.                                                   |
| CORRIEZ,  ,  I.                      | Physique.                                                    |
| DESVIGNES,  ,  A.                    | Microbiologie.                                               |
| GARDENT.....                                                                                                                                                                                               | Chimie analytique (1 <sup>re</sup> année).                   |
| GESTEAU,  ,  I.                      | Physique biologique.                                         |
| HARISPE,  ,  I.                      | Chimie générale et pharmaceutique.                           |
| HENRY.....                                                                                                                                                                                                 | Chimie analytique (2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> années). |
| LECLERC,  ,  A.                      | Chimie biologique.                                           |
| M <sup>lle</sup> LONGUEVALLE,  ,  I. | Service des examens de Chimie.                               |
| PELLERIN,  ,  I.                     | Chimie analytique (2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> années). |
| PERCHERON.....                                                                                                                                                                                             | Chimie (4 <sup>e</sup> année).                               |
| POTTIER,  ,  A.                      | Pharmacie galénique industrielle.                            |
| M <sup>lle</sup> ROLLEN,  ,  A.      | Biologie végétale.                                           |
| SAVEL.....                                                                                                                                                                                                 | Parasitologie.                                               |

## INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

|                                                                                                                                                                                                      |                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| M. GOUTAREL,  ,  A.            | Chef de Travaux de Pharmacotechnie galénique. |
| M <sup>lle</sup> MORIN,  ,  A. | Chef de Trav. de Pharmacodynamie.             |
| M. LUSINCHI.....                                                                                                                                                                                     | Chef de Trav. de Pharmac. chimique.           |

## BIBLIOTHÈQUE

*Conservateur*, chargé de la Direction : M. GARNIER, ,  I.  
*Conservateur* : M<sup>lle</sup> LAVAUD,  I.  
*Bibliothécaires* : M<sup>mes</sup> DESGRIPPES, ,  A. et KREHMER, ,  A.



# FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

---

Nom du Candidat : HALLEY

---

Date de la soutenance : 29 Janvier 1959

Numéro d'ordre : Série U - N° 303

1

**HALLEY.** — Étude du pouvoir anthelminthique des ammoniums quaternaires à anions organiques. — *Paris*, 1959, C. D. U. - S. E. D. E. S. éditeurs, 96 pages.

*Th. Doct. Univ. Pharm. Paris*, 1958-1959, N° 303.

2

**HALLEY.** — Étude du pouvoir anthelminthique des ammoniums quaternaires à anions organiques. — *Paris*, 1959, C. D. U. - S. E. D. E. S. éditeurs, 96 pages.

*Th. Doct. Univ. Pharm. Paris*, 1958-1959, N° 303.

3

**HALLEY.** — Étude du pouvoir anthelminthique des ammoniums quaternaires à anions organiques. — *Paris*, 1959, C. D. U. - S. E. D. E. S. éditeurs, 96 pages.

*Th. Doct. Univ. Pharm. Paris*, 1958-1959, N° 303.

4

**HALLEY.** — Étude du pouvoir anthelminthique des ammoniums quaternaires à anions organiques. — *Paris*, 1959, C. D. U. - S. E. D. E. S. éditeurs, 96 pages.

*Th. Doct. Univ. Pharm. Paris*, 1958-1959, N° 303.



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41554027\\_0004](https://archive.org/details/IA41554027_0004)

Etude du pouvoir anthelminthique

des ammoniums quaternaires

à anions organiques :

- série des triméthylacétylammonium à longue chaîne
- série des alcoylpyridiniums à longue chaîne.

A MES PARENTS

A Monsieur le Professeur G. VALETTE

Professeur à la Faculté de Pharmacie  
Pharmacien des Hôpitaux  
Chevalier de la Légion d'Honneur

qui me fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, en témoignage de respectueuse reconnaissance.

À mon maître

M. R. CAVIER

Professeur à la Faculté de Pharmacie  
Pharmacien en chef de l'Institut du Cancer

à qui je dois le sujet de cette thèse et qui m'a guidé de ses précieux conseils.

Hommage de gratitude et de respect.

A Monsieur le Professeur J. A. GAUTIER

Professeur à la Faculté de Pharmacie

Pharmacien des Hôpitaux

Hommages respectueux

A mon maître

M. J. RENAULT

Maître de conférences à la Faculté de

Pharmacie

Pharmacien des Hôpitaux

Témoignage de reconnaissance et de  
profonde gratitude.

## AVANT PROPOS

---

L'introduction en thérapeutique de la plupart des anthelminthiques a souvent été le fait de leur application empirique au traitement de l'Homme et des animaux domestiques porteurs de parasites. Une grande variété existe dans leur composition chimique, ainsi que le montre l'énumération des principaux corps utilisés :

- Semen contra et Santonine (lactone)
- Essence de Chenopodium et Ascaridol (peroxyde)
- Tanaisie et Tanacétone
- Pyrèthre et Pyréthrine (esters d'un alcool hétérocyclique à fonctions cétonique avec les acides chrysanthèmes - mono et dicarboniques)
- Thymol et autres dérivés phénoliques :
  - benzoyleméta-crésol (Cressentyl)
  - carbamate de l'ortho et para benzyl phénol (Butolan)
  - hexylresorcinol
- dérivés halogénés des carbures saturés
  - tétrachlorure de carbone, tétrachloréthylène

Plus récemment deux séries de composés chimiques ont été proposés :

- 1) matières colorantes dérivées du triphényl méthane
- 2) dérivés de la dibenzoparathiazine (Phénothiazine)

Les études systématiques de l'activité anthelminthique de grands groupes chimiques sont rares.

VALETTE, GAUTIER et DEBELMAS (91, 15, 24) étudient l'activité de divers constituants d'essences végétales :

- aldéhydes (cinnamique, salicylique, anisique)
- alkylphénols (Eugénol, Isoeugénol, Safrol, Anéthol, Carvacrol, Thymol)
- terpènes (Pinène, Phelladrène, Limonène, Geraniol, Citronellol, Citral).

CAVIER et GAULIN (16, 41) étudient le pouvoir vermifuge des sels peu solubles (phénylacétate, laurate, sébacate en particulier) de la pipérazine et de certaines bases voisines: éthylènediamine, pipéridine, morpholine.

La découverte du pouvoir anthelminthique des antibiotiques a suscité de nombreux travaux (BROWN (8) CHAN (20) WELLS (95) dont l'essentiel est résumé dans une mise au point récente de CAVIER (14)

Pourtant, la grande diversité de ces médicaments est une preuve évidente de leur insuffisance. Le choix de ces molécules comme anthelminthique a été le plus souvent totalement empirique (essences de plantes et leurs principes actifs). Parfois la connaissance d'une autre propriété a conditionné ce choix: pouvoir insecticide (Phénothiazine, Pyréthrinés) ou action antiseptique (dérivés du triphénylméthane, antibiotiques).

Un bon anthelminthique doit posséder un certain nombre de qualités rarement réunies dans une même molécule et qu'il convient de préciser:

- 1) Il doit atteindre le lieu de l'habitat de l'helminthe et en ce qui concerne les vers intestinaux, le produit doit être peu soluble de façon à ce que son absorption digestive soit aussi faible que possible.
- 2) Il doit rester efficace en présence du contenu intestinal.
- 3) Il doit pénétrer dans le corps de l'helminthe par voie percuticulaire ou per os.
- 4) Il ne doit pas être toxique pour l'Hôte.

Ce sont ces considérations qui nous ont amené, sous la direction de notre maître M. le Professeur R. CAVIER, à entreprendre l'étude systématique de certains ammoniums à anions organiques, ammoniums appartenant aux

deux séries des triméthylalcoylammoniums et des pyridiniums. Ces produits ont été isolés dans le laboratoire de chimie organique de la Faculté de Pharmacie de Paris par M. le Pr J. A. GAUTIER et ses collaborateurs (43,44). La présence de cet anion n'entraîne aucun changement dans l'activité antiseptique de ces molécules (GAUTIER (42)). Par contre on pouvait penser que leur absorption intestinale serait retardée par suite de leur insolubilité et espérer une activité anthelminthique plus grande des sels à anions organiques. Les sels des ammoniums quaternaires généralement utilisés comme antiseptiques sont en effet exclusivement des bromures ou des chlorures. Ces sels solubles voient leur activité antiseptique considérablement inhibée par la présence de glucides et de lipides avec lesquels ils entrent en combinaison. On pouvait penser que la présence d'une lourde chaîne organique retarderait la formation de ces complexes avec les matières organiques. Nous avons donc entrepris l'expérimentation comparée des bromures d'ammoniums solubles et des sels à anions organiques peu solubles (de  $C_8$  à  $C_{18}$  en particulier).

Les premiers produits ayant servi à notre expérimentation nous ont été fournis par M. le Pr GAUTIER. Par la suite nous avons été amené à préparer dans le laboratoire de chimie organique de la Faculté de Pharmacie de Paris et sous la direction de M. RENAULT, certains sels dont une plus grande quantité nous était nécessaire pour mener à bien l'expérimentation sur l'animal.

Nous traitons de la partie purement chimique de notre travail dans le premier chapitre de cet exposé. Le deuxième chapitre comporte un rappel des principales méthodes pharmacodynamiques d'essai des anthelminthiques et la description détaillée des méthodes utilisées dans nos expériences.

Le troisième chapitre relate nos travaux personnels et comporte l'exposé des résultats de l'application des diverses méthodes d'essais choisies à l'étude de nos produits.

Enfin dans un dernier chapitre, nous aborderons la discussion des résultats obtenus.

Avant d'aborder l'exposé de nos recherches qu'il nous soit permis d'exprimer notre reconnaissance à notre maître R. CAVIER, professeur à la Faculté de

Pharmacie de Paris, Pharmacien chef à l'Institut du Cancer qui a toujours guidé nos travaux avec la plus grande sollicitude. Il ne nous a jamais épargné ses conseils et nous avons pleinement profité de son expérience et de sa bienveillante attention pendant les années passées dans ses laboratoires de la Faculté et de l'Hôpital.

Nous voudrions aussi exprimer notre profonde gratitude à M. GAUTIER, Professeur de chimie organique à la Faculté de Pharmacie de Paris, Pharmacien des Hôpitaux, qui nous a fourni les échantillons des produits ayant servi à nos premiers essais. Il nous a toujours réservé le meilleur accueil dans son laboratoire et suivi avec intérêt notre travail.

Nous prions M. J. RENAULT, Maître de Conférences à la Faculté, Pharmacien chef de l'Hôpital St-Denis d'accepter l'expression de notre respectueuse reconnaissance. Il nous a guidé avec patience dans nos travaux de chimie et nous a toujours aidé de ses inestimables conseils dans une discipline à laquelle nous n'étions pas formée.

Notre profonde gratitude va aussi à M. le Professeur VALETTE, professeur de Pharmacodynamie à la Faculté de Pharmacie de Paris qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Nous avons toujours trouvé dans son laboratoire le meilleur accueil et les conseils les plus éclairés.

Notre reconnaissance s'adresse aussi à nos camarades et au personnel des Laboratoires de Zoologie appliquée et de Chimie organique de la Faculté de Pharmacie de Paris auprès de qui nous avons toujours trouvé l'aide et la sympathie nécessaires à un travail fructueux.

---

CHAPITRE PREMIER

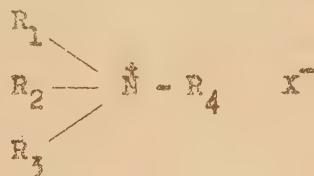
Ammoniums quaternaires à  
anions organiques

## Première partie

### HISTORIQUE

On désigne sous le nom de sels d'ammoniums quaternaires, des dérivés azotés dans lesquels chacun des quatre radicaux  $R_1$   $R_2$   $R_3$   $R_4$  est lié à l'atome d'azote par une covalence. D'autre part, une liaison ionique unit l'atome d'azote qui est chargé positivement à un anion monovalent  $X^-$ .

Un sel d'ammonium quaternaire est donc représenté par le schéma :



Ces sels s'obtiennent le plus souvent par fixation des halogénures d'alcoyles, à chaud ou à froid, sur les amines tertiaires aliphatiques ou hétérocycliques. On obtient le plus souvent des corps facilement cristallisables. L'addition est d'autant plus facile que l'atome d'azote aminé est moins encombré.

Les halogénures d'ammoniums quaternaires se comportent comme des sels de base forte et d'hydracide. Sous l'action de la potasse ou mieux de l'oxyde d'argent fraîchement précipité, ces sels fournissent des hydroxydes d'ammoniums quaternaires, qui sont des bases fortes comme la potasse et la soude.

Parmi les sels d'ammoniums quaternaires, une place spéciale doit être faite aux halogénures possédant une longue alcoylée de huit à dix-huit atomes de carbone. On les désigne sous le nom de "savons à cation actif". Ils possèdent des propriétés très intéressantes : on peut citer leur action détergente, leur pouvoir antiseptique, donnant lieu à des applications pratiques et qui, comme tels, ont suscité de nombreux travaux.

On peut classer les ammoniums quaternaires antiseptiques en trois grands groupes, en considérant l'amine tertiaire servant de matière première à leur synthèse.

1) ammoniums dérivés des trialkcoylamines :

ex : bromure de triméthylcétylammonium

2) ammoniums dérivés des dialcoylbenzylamines :

ex : chlorure de laurylbenzyl diméthylamine

3) ammoniums dérivés d'hétérocycles :

ex : bromure de cétylpyridinium.

L'activité antiseptique de ces sels a d'abord été révélée par Jacobs(53 bis) qui étudia des ammoniums quaternaires dérivés de l'hexaméthylène-tétramine. Domagk (29 bis), en 1935, montre que le pouvoir antiseptique est retrouvé chez des ammoniums plus simples, tels certains diméthylalkcoylbenzylammoniums. Par la suite les auteurs ont isolés de nombreux composés solubles dans l'eau, inodores, insipides, stables en solution et non corrosifs pour les métaux. De nombreux produits ont été ainsi proposés comme antiseptique alimentaire.

L'activité bactéricide et bactériostatique des halogénures d'ammoniums antiseptiques est en effet très élevée (75). Les sels commerciaux sont bactéricides à des concentrations comprises entre 1/15 000 et 1/80 000, après dix minutes de contact à 20°, ce qui représente une activité de cinq à dix fois supérieure à celle du bichlorure de mercure et cent fois supérieure à celle du phénol. L'activité bactériostatique est aussi très élevée. Elle se manifeste à des concentrations variant de quelques milligrammes à quelques centigrammes par litre alors que celle du phénol est de l'ordre de 2 à 3 g (75). Il faut cependant noter une sensibilité beaucoup plus grande des germes à gram négatif.

L'activité antiseptique peut être inhibée notamment par les matières organiques. Les ammoniums ont en effet une aptitude remarquable à s'unir à certains dérivés hydrocarbonés insolubles (alcools supérieurs, stérols, lipides et phospholipides). Ils sont en outre capables de précipiter les protéines dans une zone de pH très voisine du point isoélectrique. Ces propriétés pourraient expliquer la forte inhibition de l'activité antiseptique dans les milieux vivants ou organiques (aliments).

Au point de vue de leur constitution chimique, le caractère commun à ces ammoniums antiseptiques est la présence d'une chaîne hydrocarbonée de huit à dix-huit atomes de carbone, et c'est une condition indispensable. L'existence de cette longue chaîne hydrophobe opposée au reste de la molécule hydrophile, crée un pouvoir tensio-actif très élevé. Ce fait assimile les sels d'ammoniums quaternaires aux électrolytes colloïdaux.

De nombreux auteurs se sont attachés à préciser le mode d'action de ces molécules, et expliquer leurs propriétés physico-chimiques particulières : leur aptitude à donner des émulsions stables avec des composés insolubles, et aussi leur comportement en présence des protéines.

DERVICHIAN (25) étudie le mode d'action des substances dites "superficiellement actives". Parmi ces nombreux produits à anion ou cation actif, il range les détersifs, les agents mouillants, moussants ou émulsionnants, et dont font partie les ammoniums quaternaires à longue chaîne.

Il pense que l'activité bactéricide de ces substances serait due à la formation de nouvelles molécules avec les constituants lipido-protidiques des membranes microbiennes, ce qui aboutirait à la dissociation de cette membrane. Ils se formeraient des composés de même type que ceux obtenus en opposant aux substances "superficiellement actives", des composés hydrocarbonés insolubles (glycérides et alcools à longue chaîne, phospholipides, stérides). On obtient des composés définis qui gonflent au sein de l'eau et se dispersent en micelles conduisant à des émulsions stables. Elles restent en équilibre dans un excès d'eau sans se dissocier. Ce sont des molécules de même type que le coacervat obtenu en mélangeant la gélatine avec la gomme arabique, corps de polarité opposée. Pour l'auteur, il s'agirait en effet, d'une neutralisation ionique des deux corps en présence : ammonium d'une part, constituants de la membrane microbienne d'autre part. La neutralisation est analogue à celle réalisée par les colorants organiques et qui est à la base de la classification des microorganismes en gram + et -. Ce qui en outre expliquerait la plus grande sensibilité des germes à gram négatifs.

POJONOVSKI et MACHEBOEUF (71) étudient plus particulièrement l'action des savons à cation actif, en présence des protéines. Ils étudient la précipitation

de la serumalbumine par le chlorure de laurylbenzyltriméthylammonium. Ils estiment que cette précipitation est due à la neutralisation des charges négatives de la protéine par le cation  $^+$ , précipitation qui fait penser à celle d'un sel. La précipitation s'effectue en effet dans une zone de pH très voisine du point iso-électrique. Il s'agit d'un complexe stoechiométrique précipitant pour un rapport défini chlorure de laurylbenzyltriméthylammonium / protéine. Cette précipitation est modifiée par variation du pH et sous l'action des ions minéraux ( $Na^+$ ). Les auteurs pensent que le sel quaternaire se fixe par ses groupes polaires sur les pôles acides de la protéine.

Enfin, les ammoniums à longue chaîne sont toxiques. Chez l'animal les doses léthales per os varient entre 300 et 500 mg par kilo. La mort est provoquée par paralysie des muscles respiratoires. Ils exercent aux doses toxiques une action curariforme qui est retrouvée à un degré beaucoup plus élevé chez les ammoniums non antiseptiques à courte chaîne.

L'étude des ammoniums quaternaires à longue chaîne, nous l'avons souligné a été entreprise dans un but pratique (activité antiseptique, pouvoir détergent ou émulsionnant). Les relations entre leur activité et leur structure chimique ont fait l'objet de nombreux mémoires : la présence d'une longue chaîne est une condition indispensable; les auteurs ont en outre cherché à modifier la nature du cation en faisant aussi varier les radicaux covalents  $R_1$   $R_2$   $R_3$ .

Mais peu d'auteurs se sont soucié de l'anion  $X^-$ , lié à l'atome d'azote par une électrovalence. Cet anion est très généralement un hydracide (chlorure, bromure, iodure). Plus rarement ont été préparés les nitrates et sulfates. Dans tous les cas ces anions correspondent à des acides forts. Or les propriétés d'un sel en solution reflètent une sorte d'équilibre entre ses deux ions de polarité opposée. La réaction ionique en particulier dépend des polarités acides et bases, donc de la force respective de la base et de l'acide constituant le sel.

C'est pourquoi on peut s'interroger sur l'action que pourrait avoir l'introduction d'anions organiques dans les molécules en cause. La faible polarité des acides organiques, leur constitution propre, polyméthylénique, les font apparaître comme susceptibles de modifier le comportement physico-chimique de

ces sels. Dans cet ordre d'idée, on peut citer des travaux de COLICLIAN (23 bis) sur la conductivité du produit obtenu en opposant l'anion organique coloré phénolsulfonephtaléine au cation cétylpyridinium. Il note des modifications de la conductivité des solutions qui plaident en faveur de la formation d'une molécule non ionisée, issue de la combinaison des deux ions antagonistes. C'est d'ailleurs un fait expérimental bien connu que la couleur du bleu de bromophénol (tétrabromophénolsulfonephtaléine) est modifiée en présence de bromure de cétylpyridium : la teinte violette du bleu de bromophénol passe au bleu franc en présence d'une fraction de milligramme d'ammonium quaternaire. Il se fait une réaction de double décomposition entre le sel disodique de la tétrabromophénolsulfonephtaléine et le sel quaternaire, avec formation d'un sel d'ammonium à anion coloré. Ce sel bleu a des propriétés différentes de celles des halogénures d'ammonium quaternaires à longue chaîne. Il est peu soluble dans l'eau, très soluble dans les solvants organiques. Ces différences de solubilité seraient un nouvel argument permettant de supposer la formation d'un non-électrolyte.

Que se passerait-il, si on opposait au cation ammonium, des acides organiques à poids moléculaires élevés et à faible polarité acide ? Ces sels sont peu connus avant les travaux de GAUTIER et collaborateurs (43, 44) qui ont mis au point une méthode originale de synthèse de ces ammoniums à anions organiques lourds. On peut citer les travaux de SHELTON (84) sur l'étude du pouvoir bactéricide et qui conclut que, pour les sels de triméthylcétylanmoniums, la nature de l'anion n'a pas grande influence sur cette propriété.

FOLEY et LEE (40) font état d'un pentachlorophénate de triméthylcétylanmonium, utilisé comme fongicide. Mais ces sels ont toujours été essayés en solution et jamais isolés des eaux-mères de préparation.

C'est dans le but d'élucider les modifications que pourraient entraîner dans la molécule la présence d'anions organiques que GAUTIER et ses collaborateurs RENAULT et LEROI (43, 44) ont entrepris récemment la préparation de ces sels. Ils ont préparé de très nombreux sels des cations suivants :

## I Série des triméthylalcoylammoniums



triméthyllaurylammonium



triméthylmyristylammonium



triméthylcétylammonium

## II Série des pyridiniums



laurylpyridinium



myristylpyridinium



cetylpyridinium

Ces cations sont liés à des anions organiques divers, appartenant à la série aliphatique (saturée ou non saturée), à la série aromatique et à la série hétérocyclique.

Une méthode de préparation originale a été mise au point par ces auteurs dont nous indiquons les protocoles essentiels :

Les matières premières de leur synthèse sont les bromures d'ammoniums quaternaires obtenus en condensant les bromures de lauryle, myristyle et cétyle avec la triméthylamine ou la pyridine. La transformation des bromures en sels organiques ne peut être obtenue par deshalogénéation à l'aide d'oxyde d'argent fraîchement préparé suivie d'une salification de l'hydroxyde engendré par l'acide organique choisi, car les hydroxydes d'ammoniums quaternaires sont instables : on effectue

donc une double décomposition avec le carbonate d'argent qui conduit aux carbonates d'ammoniums correspondants; ceux-ci sont alors aisément transformés en sels organiques par les acides eux-mêmes. Cette transformation est facilement réalisée en milieu hydroalcoolique. Elle est délicate pour les pyridiniums qui ont tendance à se décomposer spontanément en noircissant ou brunissant. La concentration de la solution hydroalcoolique doit être très rapidement menée dans le cas des pyridiniums, sous vide sulfurique ou phosphorique et en évitant le plus possible le contact avec l'air.

Les sels obtenus forment des cristaux ou des poudres amorphes incolores, hygroscopiques. Ils absorbent l'humidité de l'air. Ils se décomposent à une température voisine du point de fusion. Ils sont facilement solubles dans l'eau, dans l'alcool, plus difficilement dans l'acétone anhydre. La solubilité dans l'eau diminue pour les sels aliphatiques au fur et à mesure que le nombre d'atomes de carbone de l'acide augmente. A partir de l'acide caprylique ( $C_8$ ) les sels de triméthylalcoylammoniums forment déjà des gels. Les laurates, myristates et stéarates sont extrêmement peu solubles dans l'eau et l'alcool.

Les pyridiniums sont un peu plus solubles dans l'eau et l'alcool. Les stéarates et myristates à chaîne myristylée et cétylée sont insolubles de même que les laurates à chaîne cétylée.

Les sels d'acides aliphatiques (acides moins forts que l'acide acétique) sont susceptibles d'être dosés par alcalimétrie en milieu acétique anhydre au moyen d'une solution titrée de  $ClO_4H$  dans ce même solvant.



Deuxième partie.

---

TRAVAUX PERSONNELS

Nous avons préparé les bromures de triméthyllaurylammonium ( $C_{12}$ ) et de triméthylmyristylammonium ( $C_{14}$ ) avant servi de matière première pour la préparation des caprylates, laurates et stéarates correspondants .

Nous avons aussi préparé les mêmes sels de la série des pyridiniums :

bromures, caprylates, laurates et stéarates de laurylpyridinium ( $C_{12}$ ) et de myristylpyridinium ( $C_{14}$ ).

---

## A - PREPARATION DES BROMURES QUATERNAIRES

### I Bromures de trimethylalcoylammoniums

On condense en tube scellé à 105 - 110 °C pendant 48 h le bromure d'alcoyle (bromure de lauryle, bromure de myristyle) avec la triméthylamine dans les proportions suivantes : 1 mol de bromure d'alcoyle pour 1,1 mol de triméthylamine, en solution à 30 % environ dans l'alcool absolu. Le titre de la solution de triméthylamine est déterminé avant usage par alcalimétrie aqueuse au moyen d'une solution normale d'acide chlorhydrique ou sulfurique.

Après condensation, le bromure quaternaire cristallise par refroidissement. Le produit est lavé à l'éther anhydre pour éliminer l'alcool et l'excès de triméthylamine. Il est essoré, séché à l'étuve en élevant progressivement la température de 50° à 100 °C. On élimine ainsi les dernières traces de triméthylamine.

Le produit est purifié par recristallisation dans l'alcool-acétone anhydre dans le cas du bromure de triméthylmyristylammonium et dans un grand volume d'acétone anhydre dans le cas du bromure de triméthyllaurylammonium. Ces corps recristallisent très mal par simple refroidissement. Il est nécessaire de distiller une grande partie du solvant jusqu'à commencement de cristallisation à chaud.

Les bromures sont dosés après dessiccation à 100° par la méthode de Charpentier-Volhard (précipitation du bromure d'argent à chaud et en milieu nitrique ) On détermine Br %. A froid, la précipitation de l'ion  $\text{Br}^-$  n'est pas totale.

Nous avons préparé :

#### a) Bromure de triméthylmyristylammonium

Br % trouvé 23,72

Br % théorie 23,80

Rendement brut 84 %

après première cristallisation 68 % ( alcool-acétone)

b) Bromure de triméthyllaurylammonium

Br % trouvé 23,57

Br % théorie 23,60

Rendement brut 93 %

après 1ère cristal. 80 % (acétone anhydre)

II Bromures d'alcoylpyridiniums

On condense dans un ballon à trois tubulures au bain de soudure à 120 °C (température interne) pendant 24 h, une molécule de Pyridine anhydre fraîchement redistillée à 1,1 mol de bromure d'alcoyle. Le ballon est surmonté d'un réfrigérant muni d'une garde à chlorure de calcium. La température doit être étroitement surveillée car la réaction est exothermique. La surchauffe est surtout importante au début de la condensation, pouvant atteindre 150 °C. On obtient un produit assez coloré qui est lavé à l'éther anhydre et recristallisé dans l'acétone anhydre.

La cristallisation est difficile. Elle est amorcée, après refroidissement, par l'addition d'une faible quantité d'éther anhydre.

Les bromures cristallisent avec une molécule d'eau. Cette eau ne peut être déplacée à 60° sous vide (1,56).

Les sels sont desséchés sous vide en présence d'acide sulfurique puis d'anhydride phosphorique.

Le dosage de Br % est effectué par la méthode de Charpentier-Volhard (précipitation de Br Ag à chaud et en milieu nitrique).

Nous avons préparé :

a) Bromure de myristylpyridinium, 1 OH<sub>2</sub>

Br % trouvé — 21,71

Br % théorie — 21,38

Rendement après 1ère cristallisation 88 % (acétone anhydre)

b) Bromure de laurylpyridinium, 1 OH<sub>2</sub>

Br % trouvé — 23,52

Br % théorie — 23,12

Rendement après 1ère cristallisation 87 % (acétone anhydre)

B - PREPARATION DES CARBONATES QUATERNAIRES

On opère de même pour les carbonates de triméthylalcoylammoniums et de alcoylpyridiniums. Ils sont obtenus par double décomposition entre le  $\text{CO}_3 \text{Ag}_2$  et les bromures quaternaires.

On obtient le  $\text{CO}_3 \text{Ag}_2$  en versant goutte à goutte dans un excès de  $\text{CO}_3 \text{Na}_2$  dissous dans l'eau (10 % de plus que la quantité théorique nécessaire), une solution de  $\text{NO}_3 \text{Ag}$  dans l'eau.

Le précipité de  $\text{CO}_3 \text{Ag}_2$  est lavé jusqu'à élimination complète des nitrates. Ce précipité recueilli humide est ajouté à la solution aqueuse refroidie de bromure quaternaire. La quantité de  $\text{CO}_3 \text{Ag}_2$  est calculée pour correspondre à un excès de 30 % environ de la quantité théorique nécessaire. Le mélange bromure-carbonate est mis dans un flacon solidement bouché et porté à l'agitation mécanique pendant deux heures au moins. On s'assure de l'élimination complète des bromures au bout de ce temps. Dans le cas de recherche positive de  $\text{Br}^-$  dans le filtrat, (précipitation à chaud par  $\text{NO}_3 \text{Ag}$  et en milieu nitrique), l'agitation est prolongée.

Après élimination totale des  $\text{Br}^-$ , on ajoute un volume égal d'alcool à 95°

pour flocculer le précipité  $\text{Br Ag} + \text{CO}_3 \text{Ag}_2$  restant. On filtre d'abord sur papier puis sur creuset  $\text{G}_4$ . La solution de carbonate est titrée par  $0.1\text{N N}/10$  en présence de l'indicateur mixte de Pashiri (rouge de méthyle + bleu de méthylène). Cet indicateur vire en milieu trop acide. L'idéal serait de pouvoir employer l'hélianthine (benzènesulfonate de sodium azo-diméthyl-phénylamine). Mais il se produit une double décomposition avec le carbonate quaternaire conduisant à la formation d'une molécule non ionisée et par conséquent ne virant plus.

Cette incompatibilité entre les ammoniums quaternaires et les colorants ammoniques, sert de base à une méthode de recherche à l'aide du bleu de bromophénol (75). Les molécules obtenues sont très différentes par leurs propriétés des ammoniums quaternaires. Elles s'en distinguent notamment par leur faible solubilité dans l'eau. Elles sont très solubles dans les solvants organiques, se comportant comme des non-électrolytes (23 bis).

#### C - PREPARATION DES SELS D'ACIDES ORGANIQUES

Ils s'obtiennent facilement au moyen de la solution hydroalcoolique de carbonate quaternaire précédemment préparée. L'acide est dissous directement dans cette solution en chauffant légèrement. La quantité d'acide est ajoutée en excès de 3 % environ. Cette solution est répartie dans de grands cristallisoirs à fond plat et le solvant est éliminé dans le vide en présence d'acide sulfurique. Parfois après 24 h, et avant le début de la cristallisation, il se produit un dépôt d' $\text{Ag}_2\text{O}$ . On élimine ces traces d'Ag par filtration sur creuset  $\text{G}_4$ . La dessiccation doit être rapide surtout pour les sels de Pyridinium qui sont éminemment instables à l'état brut. Ils ont tendance à se décomposer spontanément en brunissant.

Les sels sont recristallisés dans un mélange d'alcool-acétone anhydre. Cette recristallisation (dans l'acétone) est difficile dans le cas des pyridiniums, car ces sels se décomposent à la chaleur en brunissant fortement.

On les obtient purs en les lavant dans un grand volume d'éther anhydre qui dissout l'excès d'acide gras. Les pyridiniums sont pratiquement insolubles dans l'éther.

Le dosage de pureté des sels d'acides organiques est effectué par détermination du poids moléculaire par acidimétrie non aqueuse. Le produit dissous dans l'acide acétique anhydre est titré au moyen d'une solution de  $\text{ClO}_4\text{H}$  dans l'acide acétique anhydre et en présence de violet de méthyle.

Ces sels retiennent très fortement l'eau. Les sels de trimethylalcoylammoniums sont desséchés avant dosage sous vide phosphorique à  $60^\circ$ . Les sels de alcoylpyridiniums se décomposant à la chaleur, sont desséchés sous vide phosphorique à la température ordinaire pendant au moins un mois.

Produits obtenus :

I- Sels de trimethylmyristylammoniums.

|                     |    |         |       |
|---------------------|----|---------|-------|
| 1) <u>caprylate</u> | PM | trouvé  | 398,8 |
|                     |    | théorie | 398   |

Rt 66 % (acétone-éther)

|                   |    |         |     |
|-------------------|----|---------|-----|
| 2) <u>laurate</u> | PM | trouvé  | 460 |
|                   |    | théorie | 455 |

Rt 58 % (acétone-alcool)

|                    |    |         |     |
|--------------------|----|---------|-----|
| 3) <u>stéarate</u> | PM | trouvé  | 539 |
|                    |    | théorie | 539 |

Rt 62 % (acétone-alcool)

II- Sels de trimethylaurylammoniums.

|                     |    |         |     |
|---------------------|----|---------|-----|
| 1) <u>caprylate</u> | PM | trouvé  | 375 |
|                     |    | théorie | 371 |

Rt 80 % (acétone-éther)

- 2) laurate PM trouvé \_\_\_\_ 431  
théorie \_\_\_\_ 427

Rt 71 % (acétone)

- 3) stéarate PM trouvé \_\_\_\_ 508  
théorie \_\_\_\_ 511 .

Rt 81 % (acétone-alcool)

### III- Sels de myristylpyridiniums

- 1) caprylate PM trouvé \_\_\_\_ 420  
théorie \_\_\_\_ 419

Rt 59 % (acétone)

- 2) laurate PM trouvé \_\_\_\_ 477  
théorie \_\_\_\_ 475

Rt 86 % (acétone)

- 3) stéarate PM trouvé \_\_\_\_ 561  
théorie \_\_\_\_ 560

Rt 73 % (acétone)

### IV- Sels de laurylpyridiniums

- 1) caprylate PM trouvé \_\_\_\_ 392  
théorie \_\_\_\_ 391

Rt 80 % (acétone)

- 2) laurate PM trouvé \_\_\_\_ 448  
théorie \_\_\_\_ 447

Rt 52 % (acétone)

- 3) stéarate PM trouvé \_\_\_\_ 534  
théorie \_\_\_\_ 531

Rt 73 % (acétone)

Ces sels sont dans l'ensemble assez peu solubles dans l'eau. La solubilité diminue quand s'élève le poids moléculaire. Les laurates et surtout les stéarates sont insolubles dans l'eau. C'est pourquoi nous avons choisi ses composés pour poursuivre l'étude de leur activité anthelminthique "in vivo" chez l'animal. Leur insolubilité ainsi que leur poids moléculaire élevé étaient susceptibles de retarder la formation de complexes avec les composés protido-lipidiques du contenu intestinal et empêcher ainsi ces sels d'être fortement inhibés par les milieux organiques comme le sont les halogénures d'ammoniums quaternaires antiseptiques.



CHAPITRE DEUXIÈME

Méthodes pharmacodynamiques  
d'essai des anthelminthiques

## Première partie

---

### HISTORIQUE

Étymologiquement , le mot anthelminthique désigne les médicaments dont l'action est dirigée contre les "vers" en général. Dans la pratique, on réserve plutôt cette appellation aux médicaments qui agissent contre les vers intestinaux.

Les vers parasites de l'Homme sont connus depuis la plus haute antiquité . Les Egyptiens connaissaient l'Ascaris, l'Oxyure, le Ténia. Hippocrate, 400 ans avant notre ère, traite longuement de diverses espèces d'Helminthes et Aristote, un siècle plus tard, trace les grandes lignes de leur classification en reconnaissant des vers plats, cylindriques et ascarides.

Ces connaissances demeurent à peu près stationnaires pendant tout le Moyen Age et jusqu'au XVIIIe siècle, période à laquelle REDI (1626-1697) étudie la morphologie et la biologie de très nombreux vers parasites intestinaux ou tissulaires.

La recherche pharmacodynamique dans le domaine des anthelminthiques prend naissance en 1851 avec KUCHENMEISTER (56). Cet auteur observe et décrit le comportement d'ascarides du chat (*Toxocara mystax*) immergés dans une solution de produit à essayer. Depuis cette date de très nombreux tests pharmacodynamiques ont été proposés par divers auteurs. Ces tests font appel aux espèces animales les plus variées et souvent très éloignées des espèces parasites de l'Homme. La vérification de la valeur anthelminthique d'une drogue peut être faite selon trois grandes méthodes :

- 1) "in vitro" en dehors de l'organisme parasité
- 2) "in vivo" chez l'animal parasité
- 3) "in vivo" chez l'Homme (essais cliniques).

## I - Essais in vitro

Le matériel choisi pour l'essai "in vitro" des vermifuges est varié, quelquefois surprenant. Les espèces animales utilisées s'éloignent souvent beaucoup des vers parasites. Les grenouilles n'ont-elles pas été préconisées par CHEVALIER (23) ... , des animaux microscopiques par GREENE ... ! (45). Deux méthodes sont adoptées en 1925 à la Conférence Internationale de Bruxelles pour l'essai des préparations de fougère mâle :

### a) Méthode au ver de terre (STRAUB) (87)

On détermine sur des vers de terre (Lumbricus terrestris) l'action d'une solution à 0,002 % d'extrait de fougère mâle dans l'eau saturée de magnésie.

### b) Méthode aux poissons rouges (WASICKY) (94)

Des poissons rouges (Carassius carassius) ou des épinoches (Gasterosteus aculeatus) sont plongés dans la solution de l'extrait : on détermine la dose d'extrait suffisante pour amener la mort en trente minutes.

VILLAGRAZIA (93) en 1947 recommande encore l'emploi d'autres espèces de poissons dans le dosage de la fougère mâle.

La sangsue (Hirudo medicinalis) a été très utilisée (BRUCKE et SARKANDER) (9), (HINZ et SILBERSTEIN) (52), (OELKERS et RATHJE) (68). Ces derniers auteurs recommandent aussi l'emploi d'une autre espèce d'Annélide : Enchytraeus albus (Oligochètes). Un Oligochète d'une autre famille a été plus récemment proposé par VANNI et PEREZ-FONTANA (92). Il s'agit de Limnodrilus sp. (Tubificinés).

Mais le ver de terre (Lumbricus terrestris) est sûrement de tous les Annélides celui qui est le plus souvent utilisé : STRAUB (87) préconise l'usage du ver entier et détermine le temps nécessaire à amener la mort de cet Oligochète. TRENDLENBURG (89) utilise un lambeau musculaire de ver de terre. Cette préparation ne présente jamais de mouvements spontanés, mais manifeste une forte excitation lorsqu'on l'introduit dans une solution saturée de santoline.

SOLLMAN (85) place les vers de terre dans un tube spiralé représentant l'

intestin et rempli de liquide de Bünger. Il note l'effet répulsif de la Santonine sur les Lombrics.

NEELY et DAVY (67) proposent de vérifier la mort du ver en le plongeant dans l'eau froide; l'absence de réponse à cette excitation étant probante.

JENKINS et LAVAN-MANCHEY (55) formulent en une relation arithmétique les rapports entre la concentration du milieu en substance active et le temps de survie du ver de terre.

Il apparaît toutefois, tout à fait irrationnel d'utiliser des Annélides dans l'essai pharmacologique des vermifuges (MOUTON) (66). Les résultats obtenus avec ce matériel ne peuvent être étendus aux Nématodes qu'avec les plus grandes réserves. Les Annélides présentent des sensibilités très différentes de celles des Nématodes vis-à-vis des divers anthelminthiques. De très nombreux auteurs ont vérifié ce fait (REBELLO et collaborateurs) (72, 73, 74), LAMSON et ARD (60). Plus récemment SCHINDLER (81), SCHNEIDER (82), WENZEL et GIBSON (96).

C'est une constatation facilement explicable par les différences de l'organisation morphologique des deux embranchements zoologiques; les Nématodes sont revêtus d'une cuticule épaisse, peu perméable, résistante, de nature chimique apparentée aux scléroprotéines, et voisine de la kératine. Ils se distinguent, à cet égard, comme à beaucoup d'autres d'ailleurs, des Annélides.

Beaucoup plus logique semble donc l'emploi de vers parasites. Cette méthode se limite d'elle-même par les difficultés que présente le maintien en survie de l'organisme parasite hors de son hôte. Nous bornerons notre étude à la présentation des principaux tests faisant appel aux cestodes et aux Nématodes.

#### A) Méthodes utilisant les Cestodes.

La grande fragilité de ces helminthes et la difficulté de les maintenir en survie "in vitro", limitent beaucoup leur emploi.

La durée de survie étant généralement très courte, le test ne peut être significatif que si la drogue est utilisée à une concentration suffisante pour entraîner rapidement la mort. Cette condition est le plus souvent impossible à ré-

aliser par suite de la faible solubilité de la plupart des taenifuges. Pour ces raisons, les Cestodes ont été peu utilisés.

En 1885, SCHROEDER (83) a recours à Taenia serrata du chat pour son étude classique de l'action anthelminthique de la Pelletierine. STRAUB (87) en 1902, entreprend quelques essais avec Taenia crassicolis.

REBALLO et ses collaborateurs (72, 73, 74) adaptent à Taenia serrata et Dipylidium caninum du chien leur méthode d'enregistrement graphique des contractions d'un segment de parasite. Ils utilisent de même Taenia saginata de l'Homme.

Les premiers essais de maintien en survie des Cestodes datent des travaux de DUGUID et HEATHCOTE (50) en 1950. Ils utilisent Hymenolepis eximia, parasite commun du Mouton et qui d'après ces auteurs pourraient survivre 10 heures dans le liquide de Tyrode à une température de 39°-40 °C.

CAVIER et GAULIN (16, 41) utilisant Hymenolepis nana var. fraterna, parasite de la Souris, obtiennent des survies de vingt quatre à trente six heures, en protégeant les vers de l'attaque bactérienne par addition au milieu de conservation de sulfathiourée ou sulfaméthizol.

La découverte est donc encore à faire d'une méthode d'essai "in vitro" utilisant les Cestodes.

## B) Méthodes utilisant les Nématodes.

De nombreux auteurs ont effectué des recherches avec les Nématodes. Les Nématodes parasites sont en effet beaucoup plus résistants que les Cestodes, faciles à conserver au laboratoire dans de bonnes conditions ainsi que l'ont montré notamment CAVIER et SABEL (17, 18, 78) avec l'Ascaris du Porc.

L'Ascaris a été, de beaucoup, l'animal le plus souvent utilisé; Ascaris du Cheval (Parascaris equorum = Ascaris megalocephala) et surtout Ascaris du Porc, (Ascaris lumbricoïdes var. suum), morphologiquement identique à l'Ascaris de l'Homme.

de très nombreuses méthodes utilisant un fragment de ce parasite ou le parasite entier ont été décrites.

TRENDELENBURG (89) le premier, utilise comme matériel des préparations musculaires de Sangsue, Ver de terre ou Ascaris. Ces préparations fortement traumatisées ne présentent pas de contractions spontanées. Mais elles réagissent fortement quand elles sont plongées dans une solution saturée de Santonine ou d'essence de Chénopodium.

En 1928, REBELLO, GOMES DA COSTA et TOSCANO RICO (71, 72, 73) appliquent la méthode d'enregistrement graphique aux segments d'Ascaris, segments antérieur, postérieur ou moyen. Le segment antérieur présente des contractions plus prononcées que les autres, parce qu'il renferme l'anneau périoesophagien, système nerveux condensé de l'Ascaris. Le fragment est ligaturé aux deux extrémités ce qui permet d'une part de le fixer et d'autre part de le mettre en relation avec un styilet inscripteur. Mais, dans ces conditions expérimentales, on ne peut déceler d'autre activité que celle des drogues agissant selon l'une ou l'autre des deux modalités suivantes :

- 1) par pénétration à travers la cuticule (on sait que celle-ci est, en principe, peu perméable);
- 2) par action sur les centres nerveux atteints par l'intermédiaire des filets nerveux sectionnés.

BALDWIN et LOYLE (3) cherchent à obvier à cet inconvénient et cherchent à atteindre directement le muscle ascaridien. Ils apportent la modification suivante à la technique de REBELLO et collaborateurs. L'Ascaris est ouvert selon la ligne ventrale; on enlève le tube digestif et on ne conserve que le muscle dorsal avec sa cuticule. On ligature un fragment comme dans la technique précédente et on le soumet à l'expérimentation.

Un autre groupe de techniques ont été décrites faisant appel à l'Ascaris entier.

LAMSON et BROWN (58) étudient l'action de divers anthelminthiques sur l'Ascaris du Porc conservé dans une solution de ClNa à 9 p. 1 000. les produits à

essayer sont dissous dans cette solution saline, un système d'agitation permettant de maintenir en suspension les produits insolubles. Dans ces conditions la pénétration du produit peut s'effectuer par la voie transcuticulaire, par la voie buccale ou par les deux voies simultanément.

IRLM (90) essaie de préciser le mode de pénétration de l'hexylresorcinol chez l'*Ascaris*. Il introduit d'une part la solution à 1/2 000 par voie buccale et ligature ensuite l'animal aux deux extrémités. D'autres vers sont d'abord ligaturés et ensuite plongés dans la solution du toxique. Il dose ensuite l'hexylresorcinol dans les tissus musculaires des *Ascaris* par une réaction de diazotation. Il démontre ainsi que la pénétration transcuticulaire est de beaucoup la plus active.

Une première objection a été formulée contre l'emploi des techniques d'essai "in vitro". Beaucoup d'auteurs estiment que le parasite est maintenu dans des conditions par trop éloignées des conditions physiologiques normales. SCHILL (80) propose de comparer les résultats obtenus avec le produit à essayer dissous d'une part dans le serum physiologique et d'autre part dans du liquide intestinal.

SEELKOPF et AUTERHONF (79) dans le même but ajoutent au solvant des sels biliaires ou de la bile desséchée. CAVIER et SAVEL (17, 18, 78) précisent que l'*Ascaris* peut supporter "in vitro" des quantités relativement élevées de sels biliaires ou de bile, mais qu'une faible quantité de bile desséchée (0,05 %) suffit à augmenter beaucoup la sensibilité de l'*Ascaris* aux divers anthelminthiques.

ROGERS (77) propose d'atteindre le parasite directement dans son habitat normal. Il préconise une technique basée sur la perfusion de la solution active à travers une anse intestinale de Rat infestée par *Nippostrongylus muris*. Le fragment d'intestin grêle est ouvert après un temps donné, on compte les vers morts et vivants et on établit la courbe de mortalité en fonction de la concentration; cette technique a été appliquée par son auteur à l'étude des hydrocarbures saturés.

Une deuxième objection soulevée par MACKIE et PARNELL (62) est l'impossibilité de transposer les résultats obtenus sur la seule espèce en expérience à

d'autres espèces parasites. Ces auteurs estiment que l'utilisation concomitante de plusieurs épreuves portant sur des helminthes de genre différent permettrait de revaloriser l'emploi des techniques "in vitro". Ils proposent dans ce but et pour ce qui est des parasites intestinaux, les trois tests suivants :

1) Essais sur les stades libres de Sclérotomes (Strongylus equinus)

Le produit à essayer est mis au contact avec le crottin humidifié. On met en culture à 25° en chambre humide. Au bout de dix jours les larves infectieuses éventuellement développées sont dénombrées comparativement à un essai témoin.

2) Essais sur le segment antérieur d'Ascaris lumbricoïdes selon la méthode de BALDWIN - MOYLE (3) :

Préparation du muscle dorsal de l'Ascaris revêtu de la cuticule et dont on enregistre graphiquement les contractions.

3) Essais sur l'Anguillule du vinaigre (Turbatrix aceti) (63)

Les auteurs opèrent selon la technique de LEIPER (61). On ajoute le produit à un vinaigre contenant tous les stades libres de l'Anguillule. On détermine en fonction de la concentration, le temps au bout duquel 50 % des anguillules sont tuées.

Un quatrième essai préconisé par ces auteurs consiste en l'enregistrement graphique des contractions de la grande Douve (Fasciola hepatica) (64) selon la technique de CHANCE-MANSOUR (22).

L'usage des coprocultures ouvre d'autres voies à la recherche de tests "in vitro".

Dès 1928, KUDICKE (57) préconise l'emploi d'une coproculture de Strongyloides stercoralis parasite rare en France, ce qui limite l'emploi de ce test.

DESCHIENS (26, 27, 28) fait agir une solution de produit à essayer sur une coproculture de Rhabditis macrocerca, Rhabditidé saprozoïte isolé des selles du Lapin de garenne, facilement cultivable en laboratoire sur milieux stériles à base de crottes de lapin.

DESCHIENS évalue l'activité d'un produit à l'aide de croix :

- ++ Rhabditis morts en moins de 48 h
- + Rhabditis morts en moins de 72 h
- Rhabditis vivants après 72 h

A côté de cette méthode, DESCHIENS utilise aussi Haemonchus contortus qui présente une résistance moins grande aux anthelminthiques :

- ++ Larves mortes en moins de 6 h
- + Larves mortes en moins de 24 h
- Larves vivantes après 24 h

La valeur à attribuer aux essais "in vitro" a été beaucoup discutée . Leur emploi présente l'avantage d'être simple, rapide, peu coûteux et demeure indispensable comme méthode de sondage et de tri des substances soumises à l'essai. Leur emploi permet de déceler l'activité maxima de certains produits d'une même série chimique, par exemple. De ce point de vue les tests sur l'*Ascaris* entier et les Rhabditis sont satisfaisants, ils permettent de juger de l'activité du produit sur un Rhabditidé et sur un Ascaridé. Le test utilisant le segment antérieur d'*Ascaris* permet en outre de préciser le mode d'action de la drogue, car seuls peuvent manifester leur efficacité par ce procédé, les anthelminthiques agissant d'une façon élective sur le système nerveux du Nématode.

Cependant de nombreux produits actifs "in vitro" ne sont pas utilisables en thérapeutique, soit qu'ils se révèlent trop toxiques pour l'hôte ou dépourvus d'action. Ils doivent parcourir des distances variables le long du tractus gastro-intestinal avant d'atteindre les parasites et résister à l'action de nombreux enzymes. En outre le parasite peut se trouver hors de leur atteinte, enfoui dans la muqueuse ou protégé par du mucus ou par les produits de sécrétion intestinale.

L'essai "in vivo" doit donc nécessairement suivre l'essai "in vitro" dans toute recherche définitive.

## II - Essais "in vivo"

Les méthodes d'essais "in vivo" sont basées sur un principe unique : action du produit à essayer sur les helminthes parasites d'un animal convenablement choisi. Pour conduire utilement l'essai sur l'animal, on doit faire face à un certain nombre d'objections et de difficultés.

- Le choix de l'animal :

Celui-ci doit être de préférence un Mammifère.

- Le choix de la maladie :

La parasitose doit se rapprocher le plus possible de celle de l'Homme.

- Le choix d'une méthode de contrôle de l'activité anthelminthique :

numération des oeufs dans les selles ou constatation de l'absence des parasites vivants après le traitement.

Mais les divers Nématodes parasites présentent souvent une spécificité étroite pour un hôte donné et ces diverses espèces ont une sensibilité très différente vis-à-vis des drogues essayées. C'est le principal écueil à la recherche d'un test pleinement satisfaisant.

Nous mentionnerons les principales parasitoses proposées pour l'étude des anthelminthiques et principalement celles causées par des Nématodes :

- 1) Strongyloides ratti, déterminant une strongyloïdose du Rat (ERNARDT et DENECKE (38), transmissible expérimentalement à l'animal par application cutanée d'une culture de larves filariformes du parasite.
- 2) Nippostrongylus muris, Nématode de l'intestin grêle du Rat, (WITLOCK et BLISS (97); ROGERS (77), STEWARD (86); capable de provoquer une helminthiase expérimentale chez la Souris (BRACKETT et BLIZNICK (7)).
- 3) Heterakis spumosa, parasite du gros intestin du Rat sauvage, transmissible au

Rat blanc, (STEWART (86) ).

- 4) Aspicularis tetraptera, oxyuridé de la Souris, fréquemment rencontré dans les élevages, (DESCHIEUS (26, 27, 28), WELLS (95), HSEIH (53), THOMPSON et REINERTSON (88), BROWN, CHAN et FERREL (8), CAVIER (10, 11, 12, 13).
- 5) Syphacia ovalata, parasite commun de la Souris blanche, (DESCHIEUS (26, 27, 28), CHAN (19, 20, 21).
- 6) Passalurus ambiguus, agent de l'oxyurose du Lapin (DESCHIEUS (26, 27, 28), ERHARDT et GIESER (39), DONKER et ERHARDT (6), ERHARDT (34, 35, 37).
- 7) Trichuris leporis, agent de la trichocéphalose du Lapin (ERHARDT (34)).
- 8) Toxocara cati, ascaride du Chat, (ERHARDT (32, 36)).
- 9) Trichuris serrata, déterminant la trichocéphalose du Chat (ERHARDT (33)).
- 10) Ankylostoma caninum, ankylostome du Chat (ERHARDT (33), et du Chien (HALL et SCHILLINGER (5), WRIGHT et SCHAFFER (98)).
- 11) Toxocara canis, Ascaride du Chien (REICHOLTZ et HOTOVY (81), GUILHON (46)).
- 12) Tricocéphalus vulpis, tricocephale du Chien, (GUILHON (48)).
- 13) Ascaridia galli, agent de l'ascaridiose du jeune Poulet (RIEDEL, BABBER et HAYS (76).)
- 14) Ascaridia columboe, déterminant l'ascaridiose du Pigeon (GUILHON (46, 47, 48, 49).)
- 15) Rhabdias bufonis, Rhabditidé du colon du Crapaud (MIURA (65)).

Comme le montre cette énumération, les animaux le plus souvent employés parmi les mammifères furent le Chat et le Chien, vraisemblablement en raison de la fréquence de leurs parasitoses. Cependant le choix du Chien comme porteur de pa-

parasite est assez critiquable. Il se débarrasse facilement de ses vers et de plus présente une grande sensibilité à l'action des divers anthelminthiques. C'est ainsi que l'essence de térébenthine, absolument inactive chez l'Homme se montre un excellent vermifuge pour le Chien. Cet animal est de plus capable d'expulser ses parasites sous l'action d'un simple changement de régime.

Les tests utilisant les Rongeurs, Lapin, Rat et Souris, ont pris une importance plus grande au laboratoire, par suite du maniement plus facile de ces animaux et surtout depuis la mise au point récente de techniques d'infestation expérimentale (ERHARDT et GIESER (39), STEWARD (86), DECOILIENS (27, 29), CHAN (19, 20, 21), HSIEH (55)). Ces techniques présentent le grand avantage de permettre l'essai des produits sur des lots d'animaux infestés par un nombre sensiblement constant de parasites. Il existe en effet des variations considérables dans le degré de parasitisme des animaux spontanément infestés. Ces variations peuvent, en outre, amener des causes d'erreur dans l'interprétation des résultats de l'expérimentation : on sait qu'il faut une dose beaucoup plus forte d'anthelminthique pour débarrasser un animal plus fortement parasité.

Un autre écueil de l'emploi d'animaux spontanément infestés est l'impossibilité de savoir à quel moment du cycle évolutif le traitement est entrepris et par conséquent quel stade du développement du parasite a été atteint par le vermifuge.

Parfois c'est le diagnostic même de la parasitose qui est impossible ou difficile à faire directement. Ainsi Passalarus ambiguus élimine ses oeufs à l'intérieur du cœcum de Lapin (BOEKER (4,5)). Après deux mûres, ces oeufs donnent des larves infectieuses qui se fixent directement sur la muqueuse où elles poursuivent leur évolution. Elles se rencontrent difficilement dans les crottes. C'est pourquoi ERHARDT et GIESER (39) préconisent de pratiquer une laparotomie exploratrice chez le Lapin anesthésié, ce qui permet en outre d'apprécier le degré du parasitisme par numération des parasites contenus dans un poids donné du contenu coecal. Cette technique est longue et délicate.

Les méthodes d'infestation expérimentale sont beaucoup plus faciles à mettre en oeuvre; elles présentent en outre de nombreux avantages : elles évitent

d'une part, les dépistages systématiques dans les élevages d'animaux spontanément parasités : ces recherches sont longues du fait du grand nombre d'animaux nécessaires, le pourcentage des animaux parasités est variable et généralement faible, mais surtout elles permettent de faire agir le produit sur des stades connus du développement du parasite et de fournir ainsi des résultats rigoureusement comparables et facilement reproductibles.

Nous citerons les principales techniques récemment décrites. Elles ont été mises au point par toute une série de très importants travaux sur la biologie et le cycle évolutif des parasites utilisés.

#### I - Passalarus ambiguus du Lapin , (BOEKER (4,5).)

Les oeufs, au stade blastula, trouvés dans le caecum ou provenant de grosses femelles gravides sont mis à incuber en chambre humide à 38° pendant 24 h. Après ce temps, ils renferment des larves infectieuses (ayant subi deux mues) . Les oeufs sont inclus dans de la mie de pain et poussés dans la bouche de jeunes Lapins. On donne ainsi de 1 000 à 3 000 oeufs par animal.

Cinq jours après cette infestation on peut entreprendre un traitement sur les larves de Passalarus développées dans le coecum. Les essais sur les adultes sont entrepris quatre semaines après l'infestation. En effet, les premiers vers adultes apparaissent dès le 16ème jour de l'infection jusqu'au 55ème jour au plus tard. La durée de vie de Passalarus est d'environ 106 jours.

#### II - Heterakis spumosa du Rat, (STEWART (86).)

Le cycle est direct. Les oeufs pondus par les femelles deviennent infectieux après incubation de 14 jours à 26 °C dans le formol à 1 %. On donne à chaque Rat environ 250 oeufs. Le traitement débute 41 jours après l'infestation. Les Rats sont autopsiés 48 h après le traitement. La durée de vie des parasites qui habitent surtout le caecum et le gros intestin n'a pas été déterminé avec précision. Cependant, STEWART constate la disparition à peu près totale des oeufs dans les fèces après neuf semaines. Le maximum de la ponte se situe entre le 35e et le 50e jour qui suit l'infestation.

### III - Apicularis tetraptera.

La biologie de cet Oxyuridé de la Souris a été précisée par HSIEH (53), qui propose la méthode d'infestation artificielle suivante, adaptée d'une technique de DESCHIENS (29) :

Les oeufs obtenus par broyage de femelles gravides sont incubés dans une solution de formol à 2 % en chambre humide pendant 8 jours à 27 °C. A ce moment, les oeufs renferment un embryon vermiforme mobile. On fait ingérer ces oeufs à de jeunes Souris (âgées de six semaines) à raison de 50 à 100 oeufs par Souris. Le parasite se développe surtout dans le gros intestin. La ponte débute le 24ème ou 25ème jour qui suit l'infestation. Les femelles vivent de 45 à 50 jours, la plupart des mâles meurent après la fécondation.

HSIEH propose d'instaurer le traitement le 20ème jour, soit trois ou quatre jours avant le début de la ponte.

CAVIER (13) commence le traitement quand la recherche des oeufs dans les fèces est positive.

### III - Syphacia obvelata (CHAN (19, 20, 21)).

C'est également un Oxyuridé de la Souris qui vit surtout dans le caecum de son hôte; son cycle évolutif est direct. Les oeufs infectieux ont d'abord été obtenus par incubation sur cellophane humide d'oeufs provenant de la région périanale des Souris où viennent pondre les femelles gravides.

Plus tard l'auteur obtient le développement d'oeufs provenant de femelles trouvées dans le cœlon hors de leur habitat normal qui est le caecum et au stade migratoire vers la région périanale. Ces femelles pondent immédiatement à leur exposition à l'air, des oeufs susceptibles d'embryonner sur cellophane humide à l'étuve après 5 h à 37 °C ou 20 h - 24 h à 29 °C.

Les oeufs obtenus par broyage de femelles gravides trouvées dans le caecum ne sont pas susceptibles d'embryonner dans ces conditions, (PRINCE (71).)

Une technique plus simple proposée aussi par CHAN, consiste à mettre en con-

tact des Souris jeunes et non parasitées avec des Souris fortement parasitées et contenant des femelles au stade migratoire (recherche des oeufs positive par application de cellophane adhésive dans la région périanale). Les oeufs embryonnent et éclosent rapidement à la température du corps de la Souris; on trouve en effet de nombreuses coques vides. Les jeunes Souris s'infestent par léchage ou par ingestion des oeufs tombés sur la litière.

La durée de vie des Syphacia est courte (16 jours). Au 10ème jour, on trouve 100 % de femelles gravides dans le caecum. La ponte commence le 12ème jour. Le traitement est instauré après 7 à 9 jours de contact et dure deux jours. Les animaux sont autopsiés 24 heures après.

BROWN, CHAN et FERREL (8), ont proposé une méthode d'infestation mixte par Aspicularis et Syphacia.

De jeunes Souris provenant d'élevages non parasités, reçoivent 500 oeufs d'Aspicularis. Cinq jours plus tard on les met en contact pendant 7 jours avec des Souris parasitées par Syphacia. Le traitement commence le 13ème jour et dure trois jours. Le traitement est donc instauré sur des Aspicularis âgés de 13-14 et 15 jours et sur des Syphacia âgés de 7-8 et 9 jours au maximum.

Le dernier problème posé par l'emploi des méthodes "in vivo" est celui de l'appréciation de l'activité pharmacodynamique et du choix d'un test permettant une étude comparative du pouvoir anthelminthique des drogues expérimentées.

De nombreux critères d'activité ont été proposés :

1) Tests fondés sur la recherche ou la numération des oeufs des parasites dans les fèces.

On compare le nombre d'oeufs émis quotidiennement avant et après traitement. Certains auteurs estiment qu'une brusque élévation du taux de ponte au début du traitement est un bon critère d'activité.

Cette méthode n'en demeure pas moins peu rigoureuse. La ponte est sans doute inhibée par de nombreux facteurs peu connus ou difficiles à préciser. Ainsi

STEWART (86) a mis en évidence dans le cycle de Nippostrongylus muris, une chute brutale de la ponte au 14ème jour et qui serait due à des phénomènes immunitaires.

## 2) Tests fondés sur la numération des vers chez les animaux traités.

C'est la méthode de HALL (50) qui consiste à compter les parasites expulsés dans les fèces pendant le traitement. On compte aussi ceux qui restent dans l'intestin à l'autopsie pratiquée deux ou trois jours après la fin du traitement. Cette méthode a été appliquée par son auteur au Chien, dans l'étude de l'action du tétrachlorure de carbone sur le *Taenia*.

Un autre mode d'expression des résultats a été proposé par STEWART (86) dans le cas où, comme précédemment tous les animaux en expérience sont traités. Il l'appelle "l'activité directe".

$$\text{activité directe p. 100} = \frac{\text{nombre de vers morts ou expulsés}}{\text{nombre total de vers}} \times 100$$

## 3) Tests utilisant un groupe témoin.

STEWART propose dans ce cas de déterminer "l'activité indirecte" p. 100 =

$$\frac{\begin{array}{cc} \text{nombre moyen de vers} & \text{nombre moyen de vers} \\ \text{trouvés chez les témoins} & \text{trouvés chez les traités} \end{array}}{\text{nombre moyen de vers}} \times 100$$

trouvés chez les témoins

STEWART propose d'ailleurs de combiner les deux derniers tests et tient pour significative une différence d'au moins 50 % entre les deux "activités". La mesure de l'"activité directe" d'autre part permet de déceler une action minime qui passerait inaperçue par la seule considération de l'"activité indirecte". Ces formules sont d'ailleurs applicables aux animaux spontanément ou artificiellement parasités.

Quand on a recours à des animaux parasités par infestation expérimentale, il suffit de comparer les chiffres exprimant le nombre moyen de vers trouvés chez les témoins au nombre moyen de vers trouvés chez les traités. La diminution du nombre moyen de vers chez les animaux traités est un test sensible et recommandé par de nombreux auteurs ( CHAN (20), BROWN, CHAN et FERREL (8), HSIEH (53), WELLS (95), THOMSON et REINERTSON (68), ERHARDT (36, 35) ).

#### 4) Test de deparasitation totale.

On vérifie après la cure, à l'autopsie, l'absence de parasites. Bien que moins sensible que les précédents, ce test est plus rigoureux et plus facile à mettre en oeuvre que les précédents. Il est sans doute le seul valable quand on se sert d'animaux spontanément parasités. Il permet d'autre part de réduire considérablement le nombre des témoins dans les techniques d'infestation artificielles.



## Deuxième partie

### DESCRIPTION DES TECHNIQUES CHOISIES

Nous avons retenu pour l'essai de nos produits les tests suivants :

#### A) Test "in vitro"

- 1) Sur *Rhabditis macrocerca*
- 2) Sur *Ascaris lumbricoides* var. suum
  - $\alpha$ ) sur l'*Ascaris* entier
  - $\beta$ ) sur le segment antérieur

#### B) Test "in vivo"

sur *Syphacia obvelata* chez la Souris.

### I - Essai "in vitro" sur *Rhabditis macrocerca*

Nous avons adopté une technique inspirée du test de DESCHIENS (26, 27, 28 ) et modifiées par CAVIER et ses élèves (13). Le test original de DESCHIENS consistait à faire agir sur une coproculture de *Rhabditis macrocerca*, une solution du produit à essayer et à déterminer le temps nécessaire pour provoquer la mort de tous les *Rhabditis*. Selon l'auteur si ce temps est inférieur à 72 heures, le test peut être considéré comme positif.

Malheureusement, la durée de survie est difficile à préciser. Comme l'a montré GAULIN (41) le pourcentage de mortalité s'élève rapidement dans les premières minutes pour ne croître que lentement dans les heures qui suivent. Il pense d'autre part avec DEBELMAS (24), que le temps de 72 heures est beaucoup trop long. Ces considérations nous ont amené à prendre comme critère d'activité, la détermination de la concentration qui provoque en soixante minutes la mort de 50 % des *Rhabditis*.

La culture de *Rhabditis* est obtenue sur milieux stériles à base de crottes de Lapin. Des crottes fraîches de Lapin sont triturées avec de l'eau de façon à constituer une pâte consistante que l'on répartit en boîte de Petri sous faible épaisseur (2-3 mm). Ces milieux sont stérilisés pendant deux jours de suite, une demi-heure, à 120°. Cette double stérilisation est indispensable pour débarrasser le milieu de toute spore mycelienne résistante. Les milieux sont ensemencés en leur centre à partir d'une coproculture ancienne. Les milieux sont repiqués toutes les semaines.

Pour l'essai proprement dit, nous opérons de la façon suivante :

A l'aide d'une anse de platine flambée, nous prélevons sur les bords de la culture une quantité de coproculture d'un poids voisin de 0,25 g à 0,40 g. Nous la délayons dans un petit cristalliseur avec quelques centimètres cubes (5 à 10) de la solution, émulsion ou suspension du produit à essayer. Les cristalliseurs sont couverts par un verre de montre qui prévient toute évaporation. Après soixante minutes de contact, nous prélevons, après agitation, quelques gouttes de mélange qui sont portées dans une cellule de Nageotte de 50 mm<sup>3</sup> de capacité.

La préparation est observée à faible grossissement (loupe binoculaire ou microscope à l'objectif n° 4). Les mouvements des vers sont limités par la faible profondeur de la cellule. Ils sont agités de soubresauts, mais ne peuvent se déplacer librement dans toute la cellule, ce qui facilite d'autant leur numération. Ils ont même tendance à s'immobiliser après un certain temps, ce qui pourrait les faire compter pour morts. Cependant en opérant rapidement la numération des vers vivants et morts est très facile. Pour rendre cette numération plus facile, PAUTERIZEL (69) propose l'addition d'éosine à 1 % qui se fixerait électivement sur les *Rhabditis* morts. CAVIER et ses élèves pensent que cet artifice n'est pas nécessaire.

Pour chaque essai nous faisons au moins cinq numérations et nous prenons la moyenne arithmétique des résultats ainsi obtenus. Nous cherchons à déterminer la concentration qui amène la mort de 50 % des *Rhabditis* en soixante minutes.

Il semble que les meilleurs résultats soient obtenus en utilisant une culture agée de 4 à 6 jours. En effet, d'après CAVIER et ses élèves (13), le pour-

centage d'individus morts spontanément s'élève rapidement à partir du 8<sup>e</sup> ou 9<sup>e</sup>me jour et croît régulièrement avec l'âge de la culture.

C'est ainsi qu'il passe de 0 % dans les 7 premiers jours à 6 % le 9<sup>e</sup>me jour. pour atteindre 62 % au 18<sup>e</sup>me jour. Le 23<sup>e</sup>me jour 80 % des Rhabditis de la culture sont des cadavres. D'autre part il est assez logique de penser que des Rhabditis âgés sont plus sensibles à l'action des toxiques.

## II - Essais "in vitro" sur l'Ascaris entier.

Cet essai s'inspire directement de la technique de LAMSON et BROWN (58). Il consiste à établir le temps de survie pour des Ascaris plongés dans la solution du produit à essayer.

Les Ascaris, prélevés aussitôt après l'abattage des Porcs, sont placés dans une solution de Tyrode à 37 °C et transportés rapidement au laboratoire dans un thermostat. Ils sont soigneusement lavés avec du serum physiologique à 37 °C et conservés à l'étuve dans une solution de Tyrode modifiée, dont la composition indiquée par CAVIER et SAVEL (17, 18, 78), est la suivante :

|                     |       |                     |
|---------------------|-------|---------------------|
| Cl Na               | _____ | 0,80 g              |
| Cl K                | _____ | 0,02 -              |
| Cl <sub>2</sub> Ca  | _____ | 0,02 -              |
| Cl <sub>2</sub> Mg  | _____ | 0,01 -              |
| CO <sub>3</sub> HNa | _____ | 0,15 -              |
| Glucose             | _____ | 0,50 -              |
| Eau dist. qsp.      | _____ | 100 cm <sup>3</sup> |

Nous ajoutons au milieu de la 3-4-diméthyl-5-sulfamidoisoxazol (Cantrisine) à raison de 5 mg pour 100 cm<sup>3</sup>. Dans ces conditions d'aseptie relative, la durée de vie des Ascaris est de l'ordre de 19 jours. Le milieu doit être changé toutes les 24 heures. Cette solution de Tyrode modifiée a aussi servi à dissoudre les produits mis en expérience.

Une dizaine de vers sont plongés dans un volume de 500 cc de la solution

maintenue à 37 °C - 38 °C. Nous observons le comportement des vers sous l'action du toxique. Nous notons le temps de survie. Comme critère de mortalité nous avons adopté les réactions de l'*Ascaris* vis-à-vis de la chaleur. Tout ver ne présentant pas de mouvements quand il est plongé dans du Tyrode à 60° est considéré comme mort.

Nous avons cherché à déterminer la concentration tuant les *Ascaris* en un temps inférieur à six heures.

### III - Test "in vitro" sur le segment antérieur d'*Ascaris*.

Nous avons adopté la méthode d'inscription graphique décrite par REBELLO, GOMES DA COSTA et TOSCANO RICO (72, 74).

Un *Ascaris*, bien mobile, est ligaturé à environ deux centimètres de l'extrémité céphalique. On pose une autre ligature sur l'extrémité céphalique en ayant bien soin de ne pas la léser. Cette deuxième ligature est terminée par une boucle. Le segment ainsi délimité est coupé. La boucle est passée dans un crochet fixé à l'intérieur d'un dispositif rempli de Tyrode. Le tout est maintenu dans un bain-marie à 38 °C. Un robinet à trois voies permet de substituer les uns aux autres les liquides à essayer ou de procéder au lavage de la préparation. L'extrémité du fil de la ligature antérieure est fixée à un stylet inscripteur dont on règle le contrepois afin d'obtenir une courbe d'assez grande amplitude.

Nous avons cherché à déterminer la concentration entraînant la mort ou la paralysie du segment antérieur en un temps égal ou inférieur à une heure en général.

### IV - Test "in vivo" sur *Syphacia obvelata*.

Cette technique d'essai est directement inspirée par les travaux de CHAN (19, 20, 21).

*Syphacia obvelata*, Oxyuridé parasite de la Souris et du Rat est un Nématode voisin de l'Oxyure de l'Homme (*Enterobius vermicularis*). Sa biologie et son cycle évolutif ont été précisés par CHAN.

Le cycle est direct. Après ingestion par la Souris, les oeufs embryonnés éclosent rapidement dans l'intestin grêle et au bout de deux heures environ, on trouve les premières larves dans le caecum des animaux. Après un temps voisin de 48 h on assiste au début de la différenciation sexuelle. Les premiers oeufs apparaissent dans les femelles fécondées vers le huitième jour. Les mâles meurent peu après la copulation. Au dixième jour de l'infestation toutes les femelles trouvées dans le caecum sont gravides. Le deuxième elles commencent à émigrer à travers le côlon vers la région périanale où elles vont pondre. Cette particularité rapproche *Syphacia obvelata* de *Enterobius vermicularis* et a permis la mise au point d'une méthode originale de dépistage des souris parasitées. Au bout du seizième jour la ponte est terminée.

La recherche des oeufs se fait de la façon suivante : un petit carré de cellophane adhésive est appliqué dans la région périanale de la Souris. Il est ensuite appliqué sur une lame et examiné au microscope (objectif n° 6). On observe surtout la tache annulaire déterminée et son pourtour immédiat. Les oeufs sont alors très facilement décelés. Certains renferment encore leur embryon; parfois cet embryon est libéré et on aperçoit seulement des coques vides. En effet, les oeufs de *Syphacia* s'embryonnent très rapidement à la température de corps de la Souris (il faut cinq heures à 37 °C).

Nous avons adopté dans nos recherches la technique d'infestation artificielle "par contact" décrite par CHAN.

Des Souris spontanément et fortement parasitées sont triées par le procédé précédemment décrit. Elles sont immédiatement placées dans le même bocal que de jeunes Souris de 5-6 semaines et indemnes de parasites. Il faut environ une souris parasitée pour trois jeunes Souris. Le "contact" est maintenu quatre jours. Ce temps est inférieur à celui proposé par CHAN et BROWN qui préconisent une durée de sept jours. Mais nous avons toujours obtenu au bout de ce temps, quatre jours, des pourcentages élevés de Souris parasitées (95 à 100 % chez les témoins).

Le traitement commence le 7ème jour et dure 4 jours. Les Souris reçoivent la drogue par voie stomacale. Le produit est introduit à l'aide d'une petite sonde œsophagienne montée sur une seringue graduée. Les Souris sont autopsiées 24 ou 48 heures après la fin du traitement. Le caecum et le gros intestin sont ouverts

séparément dans un peu d'eau, pour vérifier l'absence de parasites. Dans le gros intestin on vérifie surtout l'absence de grosses femelles au stade migratoire.

Nous cherchons à déterminer la plus faible dose capable de déparasiter toutes les Souris traitées. La présence de parasites est vérifiée chez les témoins, à l'autopsie, ou simplement par la recherche d'oeufs par la callophane adhésive. Dans ce dernier cas, les Souris témoins peuvent servir à parasiter un autre lot de Souris neuves.





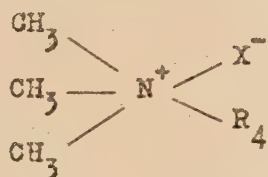
## CHAPITRE TROISIEME

Travaux personnels

Essais "in vitro" sur Rhabditis macrocerca.

Les résultats de nos essais sont résumés en six tableaux.

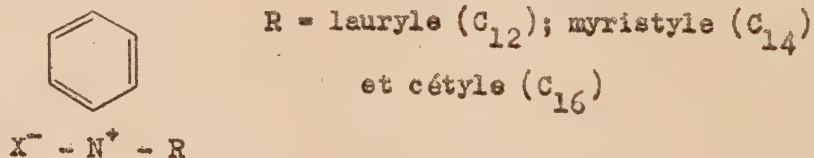
Trois premiers tableaux sont relatifs aux sels de triméthylalcoylammoniums de formule générale :



$\text{R}_4$  = lauryle ( $\text{C}_{12}$ ); myristyle ( $\text{C}_{14}$ ) et cétyle ( $\text{C}_{16}$ ).

Les acides sont d'une part  $\text{Br}^-$  et d'autre part les acides organiques : caproïque ( $\text{C}_6$ ), caprylique ( $\text{C}_8$ ), laurique ( $\text{C}_{12}$ ), stéarique ( $\text{C}_{18}$ ),  $\Delta$ -10 undécylique ( $\text{C}_{11}$ ) et oléique ( $\text{C}_{18}$ ).

Les trois autres tableaux exposent les résultats obtenus dans l'essai des sels de alcoylpyridiniums de formule générale :



Les anions organiques sont les suivants :

acétique ( $\text{C}_2$ ), caproïque ( $\text{C}_6$ ), caprylique ( $\text{C}_8$ ), pelargonique ( $\text{C}_9$ ), caprique ( $\text{C}_{10}$ ), laurique ( $\text{C}_{12}$ ), tridécanoïque ( $\text{C}_{13}$ ), myristique ( $\text{C}_{14}$ ), et stéarique ( $\text{C}_{18}$ ).

Nous cherchons à déterminer la concentration amenant la mort de 50 % des Rhabditis en soixante minutes.

N.B. Pour certains sels, et malgré plusieurs séries d'essais, nous avons une assez grande dispersion dans les résultats. Dans ce cas, nous avons jugé préférable d'exposer deux résultats significatifs plutôt que leur moyenne arithmétique.

Essais d'activité "in vitro" sur *Rhabditis macrocerca*

TABEAU I

Sels de triméthyllaurylammoniums

| X <sup>an</sup>    | Formule brute                                   | P m | Concentration active |
|--------------------|-------------------------------------------------|-----|----------------------|
| Bromure            | C <sub>15</sub> H <sub>34</sub> N Br            | 307 | M/2 500 - M/3 000    |
| Caproïque          | C <sub>21</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>2</sub> | 343 | M/5 000              |
| Caprylique         | C <sub>23</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>2</sub> | 371 | M/5 000              |
| Laurique           | C <sub>27</sub> H <sub>57</sub> NO <sub>2</sub> | 427 | M/4 000              |
| Stéarique          | C <sub>33</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>2</sub> | 511 | M/5 000              |
| Δ-10 Undécylénique | C <sub>26</sub> H <sub>53</sub> NO <sub>2</sub> | 411 | M/2 500              |
| Oléique            | C <sub>33</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>2</sub> | 509 | M/ 1 000             |

Essais d'activité "in vitro" sur *Rhabditis macrocerca*.

TABLEAU II

Sels de triméthylmyristylammoniums

| X <sup>-</sup>     | Formule brute                                   | P M | Concentration active |
|--------------------|-------------------------------------------------|-----|----------------------|
| Bromure            | C <sub>17</sub> H <sub>38</sub> N Br            | 335 | M/2 500              |
| Caproïque          | C <sub>23</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>2</sub> | 371 | M/3 000              |
| Caprylique         | C <sub>25</sub> H <sub>53</sub> NO <sub>2</sub> | 399 | M/2 500 - M/3 000    |
| Laurique           | C <sub>29</sub> H <sub>61</sub> NO <sub>2</sub> | 455 | M/5 000              |
| Stéarique          | C <sub>35</sub> H <sub>75</sub> NO <sub>2</sub> | 539 | M/1 000              |
| Δ-10 UNdecylenique | C <sub>28</sub> H <sub>57</sub> NO <sub>2</sub> | 439 | M/2 500              |
| Oléique            | C <sub>35</sub> H <sub>71</sub> NO <sub>2</sub> | 537 | M/1 000 - M/1 250    |

Essais d'activité "in vitro" sur *Rhabditis macrocerca*

TABLEAU III

Sels de triméthylcétylanmoniums

| $X^-$                      | Formule brute        | P M | Concentration active |
|----------------------------|----------------------|-----|----------------------|
| Bromure                    | $C_{19} H_{42} N Br$ | 363 | M/1 000              |
| Caproïque                  | $C_{25} H_{53} NO_2$ | 399 | M/2 000              |
| Caprylique                 | $C_{27} H_{57} NO_2$ | 427 | < M/1 000            |
| Laurique                   | $C_{31} H_{65} NO_2$ | 483 | M/1 000              |
| Stéarique                  | $C_{37} H_{77} NO_2$ | 567 | M/2 500              |
| $\Delta$ -10 Undecylénique | $C_{30} H_{61} NO_2$ | 467 | M/ 1 250             |
| Oléique                    | $C_{37} H_{57} NO_2$ | 565 | < .../500            |

Essais d'activité "in vitro" sur *Rhabditis macrocerca*

TABLÉAU IV

Sels de laurylpyridiniums

| X <sup>-</sup> | Formule brute                                   | P M | Concentration active |
|----------------|-------------------------------------------------|-----|----------------------|
| Bromure        | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> N Br.           | 327 | M/3 000              |
| Acétique       | non obtenu                                      |     |                      |
| Caproïque      | C <sub>23</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>2</sub> | 363 | M/2 500              |
| Caprylique     | C <sub>25</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>2</sub> | 391 | M/5 000              |
| Pelargonique   | non obtenu                                      |     |                      |
| Caprique       | C <sub>27</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>2</sub> | 419 | M/4 000              |
| Laurique       | C <sub>29</sub> H <sub>53</sub> NO <sub>2</sub> | 447 | M/3 000 - M/4 000    |
| Tridécanoïque  | C <sub>30</sub> H <sub>55</sub> NO <sub>2</sub> | 461 | M/3 000              |
| Myristique     | C <sub>31</sub> H <sub>57</sub> NO <sub>2</sub> | 475 | M/2 000              |
| Stéarique      | C <sub>35</sub> H <sub>65</sub> NO <sub>2</sub> | 531 | M/3 000              |

Essais d'activité "in vitro" sur Rhabditis macrocerca

TABLEAU V

Sels de myristylpyridiniums

| X <sup>-</sup> | Formule brute                                   | P M | Concentration active |
|----------------|-------------------------------------------------|-----|----------------------|
| Bromure        | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> N Br            | 355 | M/2 000              |
| Acétique       | C <sub>21</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>2</sub> | 335 | M/2 000              |
| Caproïque      | C <sub>25</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>2</sub> | 391 | M/3 000              |
| Caprylique     | C <sub>27</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>2</sub> | 419 | M/2 500              |
| Pelargonique   | C <sub>28</sub> H <sub>51</sub> NO <sub>2</sub> | 433 | M/2 500              |
| Caprique       | C <sub>29</sub> H <sub>53</sub> NO <sub>2</sub> | 450 | M/3 000 - M/4 000    |
| Laurique       | C <sub>31</sub> H <sub>57</sub> NO <sub>2</sub> | 475 | M/2 000              |
| Tridecanoïque  | C <sub>32</sub> H <sub>59</sub> NO <sub>2</sub> | 489 | < M/500              |
| Myristique     | C <sub>33</sub> H <sub>61</sub> NO <sub>2</sub> | 503 | < M/100              |
| Stéarique      | C <sub>37</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>2</sub> | 559 | < M/500              |

Essais d'activité "in vitro" sur *Rhabditis macrocerca*

TABEAU VI

Sels de Cétylpyridiniums

| $X^-$         | Formule brute        | P M | Concentration active |
|---------------|----------------------|-----|----------------------|
| Bromure       | $C_{21} H_{38} N Br$ | 383 | M/750 - M/1 000      |
| Acétique      | $C_{23} H_{41} NO_2$ | 363 | M/750                |
| Caproïque     | $C_{27} H_{49} NO_2$ | 419 | M/1 500              |
| Caprylique    | $C_{29} H_{53} NO_2$ | 447 | M/1 500              |
| Pélagonique   | $C_{30} H_{55} NO_2$ | 461 | M/1 250              |
| Caprique      | $C_{31} H_{57} NO_2$ | 475 | M/2 000              |
| Laurique      | $C_{33} H_{61} NO_2$ | 503 | M/500                |
| Tridécanoïque | $C_{34} H_{63} NO_2$ | 517 | < M/100              |
| Myristique    | $C_{35} H_{65} NO_2$ | 531 | < M/100              |
| Stéarique     | $C_{39} H_{73} NO_2$ | 587 | < M/100              |

## DISCUSSION

### Sels de trimethylalcoylammoniums

Pour un même anion, l'activité diminue régulièrement des composés en  $C_{12}$  à ceux en  $C_{16}$ . D'autre part, l'activité diminue à mesure que s'élève le nombre d'atomes de carbone de l'anion. L'action est donc sensiblement fonction du poids moléculaire, les composés les plus lourds étant les moins actifs.

Cependant, pour les composés en  $C_{12}$ , la concentration active est la même (1/5 000) pour le caproate ( $C_6$ ), le caprylate ( $C_8$ ) et le stéarate ( $C_{18}$ ). Une autre irrégularité est signalée pour les sels de l'acide laurique ( $C_{12}$ ). Le laurate de  $(CH_3)_3$  myristylammonium paraît être un peu plus actif (1/5 000) que le laurate de  $(CH_3)_3$  laurylammonium (1/4 000). Il est aussi beaucoup plus actif que le caprylate ( $C_8$ ) de myristylammonium (1/2 500).

La présence d'une double liaison semble diminuer la toxicité sur *Rhabditis macrocerca* (ac.  $\Delta$  - 10 Undecylénique et ac. Oléique).

Les bromures sont moins actifs, compte tenu de leur poids moléculaire plus faible et de leur solubilité plus grande.

En résumé, la présence d'un anion organique dans les sels de alcoylammonium semble augmenter la toxicité sur *Rhabditis macrocerca*.

### Sels de alcoylpyridiniums.

La série des anions saturés est plus complète. Comme pour les trimethylalcoylammoniums, l'activité semble grossièrement fonction du poids moléculaire. Le pouvoir anthelminthique, évalué "in vitro" sur *Rhabditis macrocerca*, diminue lorsque le poids moléculaire du cation s'élève : les sels de laurylpyridiniums sont plus actifs que les sels de myristylpyridiniums, eux-mêmes plus efficaces que les sels de cetylpyridiniums. Pour le même cation, le maximum d'activité se manifeste pour une longueur de la chaîne anionique située en  $C_8$  et  $C_{12}$  selon les cas.

Les sels à anions organiques sont en outre plus toxiques que les bromures.

## II - Essais "in vitro" sur l'Ascaris entier

Nos essais ont porté sur les bromures, caprylates et laurates des deux séries de triméthylalcoylammoniums et alcoylpyridiniums à chaîne en  $C_{12}$ ,  $C_{14}$  et  $C_{16}$ .

Les sels en  $C_{16}$  sont peu solubles et il est nécessaire d'agiter fréquemment pour remettre le produit en suspension; cette suspension demeure assez longtemps stable par suite du pouvoir tensio actif de ces produits.

Nous avons été amené à porter une petite modification au test initialement choisi. A la concentration M/1 000 en effet nous obtenons généralement la mort de tous les Ascaris en un temps égal ou inférieur à 6 h. Nous nous avons donc essayé tous les sels à cette concentration et nous avons indiqué le pourcentage de morts et le temps utile à amener cette mort.

### A) Série des triméthylalcoylammoniums

Nous avons essayé les bromures, caprylates et laurates des triméthylalcoylammoniums en  $C_{12}$ ,  $C_{14}$  et  $C_{16}$ .

#### I) Sels de $(CH_3)_3$ laurylammoniums M/1 000, Tableau I.

##### 1) Bromure (P M 307)

Ce sel à la concentration M/1 000, tue 25 % des Ascaris en 6 h (2 Ascaris sur 8). Les autres vers ne présentent que de très faibles mouvements dans la solution de Tyrode à 60 °C.

##### 2) Caprylate (P M 371)

Ce sel se montre particulièrement inactif. Dans un premier essai, un seul Ascaris sur huit est mort après 6 h de contact. Après 24 h deux Ascaris étaient encore vivants.

Dans un deuxième essai, tous les Ascaris sont vivants après 6 h. Au bout de 24 h, quatre sont encore vivants mais présentent de très faibles mouvements dans le Tyrode à 60 °C.

### 3) Laurate (P M 427)

25 % des Ascaris sont tués en 4 h (2 sur 8). Après 6 heures le pourcentage de morts n'a pas varié. Au bout de 24 heures, tous les Ascaris sont morts. Les vers présentent une coloration rouge cerise de l'extrémité postérieure. Ce phénomène n'a été observé qu'avec ce sel et après deux essais consécutifs.

TABLERAU I

Sels de triméthyllaurylammoniums

| X <sup>-</sup> | P M | Concentrat. | % de morts | temps utile |
|----------------|-----|-------------|------------|-------------|
| Bromure        | 307 | M/1 000     | 25         | 6 h         |
| Caprylate      | 371 | M/1 000     | 0          |             |
| Laurate        | 427 | M/1 000     | 25         | 4 h         |

## II) Sels de (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> myristylammoniums M/1 000, Tableau II.

### 1) Bromure (P M 335)

En six heures tous les Ascaris sont morts. Après quatre heures il ne restait plus qu'un seul ver vivant. Les Ascaris présentent un aspect cordiforme très particulier.

### 2) Caprylate (P M 399)

Se montre très actif. En 3 h 30 tous les Ascaris (8) sont morts. Dans un deuxième essai tous les Ascaris (6) sont morts en 4 h.

### 3) Laurate (P M 455)

Après 4 heures, la moitié des *Ascaris* sont morts (4 sur 8). Les autres présentent de faibles mouvements dans le Tyrode à 60 °C.

Il est remarquable de noter l'activité très grande des sels de  $(CH_3)_3$  myristylammoniums et tout particulièrement la très grande différence d'activité des caprylates.

TABLEAU II

Sels de trimethylmyristylammoniums

| $X^-$     | P M | Concentrat. | % de morts | temps utile |
|-----------|-----|-------------|------------|-------------|
| Bromure   | 335 | M/1 000     | 100        | 6 h         |
| Caprylate | 399 | M/1 000     | 100        | 3 h 30      |
| Laurate   | 455 | M/1 000     | 50         | 4 h         |

### III) Sels de $(CH_3)_3$ cetylammioniums M/1 000, Tableau III

#### 1) Bromure (PM : 363)

Tous les *Ascaris* en expérience (10) sont tués en 5 h .

#### 2) Caprylate (PM : 427)

En six heures tous les *Ascaris* sont morts (10); la mort des cinq premiers avait été obtenue en 3 h .

#### 3) Laurate (PM : 483)

En six heures, on note la mort de 8 *Ascaris* sur 10. Les deux autres ne présentaient plus que de faibles mouvements.

TABLEAU III

Sels de triméthylcetylammmoniums

| $X^-$     | P M | Concentrat. | % de morts | temps utile |
|-----------|-----|-------------|------------|-------------|
| Bromure   | 363 | M/1 000     | 100        | 5 h         |
| Caprylate | 427 | M/1 000     | 100        | 6 h         |
| Laurate   | 483 | M/1 000     | 80         | 6 h         |

B) Série des pyridiniums

Nos essais ont porté sur les bromures, caprylates et laurates de pyridiniums à chaîne en  $C_{12}$ ,  $C_{14}$  et  $C_{16}$ .

I) Sels de laurylpyridiniums, M/1 000. Tableau IV

1) Bromure (PM : 328)

Ce sel tue à la concentration M/1 000, 75 % des Ascaris (6 sur 8) en 6 h. Les autres Ascaris présentent des mouvements de faible amplitude dans le Tyrode à 60°

2) Caprylate (PM : 391)

Tous les Ascaris (10) sont morts après 4 heures.

3) Laurate (PM : 447)

A la concentration M/1 000, tous les Ascaris (8) sont tués après 3 heures.

A la concentration M/5 000, ce sel ne provoque la mort d'aucun Ascaris après 6 h de contact.

TABLEAU IV

Sels de laurylpyridiniums

| X <sup>-</sup> | P M | Concentrat. | % de morts | temps utile |
|----------------|-----|-------------|------------|-------------|
| Bromure        | 328 | M/1 000     | 75         | 6 h         |
| Caprylate      | 391 | M/1 000     | 100        | 4 h         |
| Laurate        | 447 | M/1 000     | 100        | 3 h         |

II) Sels de myristylpyridiniums. M/1 000

1) Bromure (PM : 356)

Tous les Ascaris (8) sont morts en 6 h. Ils présentent comme pour le bromure de triméthylmyristylammonium, un aspect noueux, cordiforme, caractéristique.

2) Caprylate (PM : 419)

L'action est remarquablement rapide à la concentration M/1 000 tous les Ascaris (6) meurent en 2 heures.

3) Laurate (PM : 475)

Après cinq heures de contact il reste un Ascaris, peu actif, vivant. 6 Ascaris sur 8 (75 %) sont morts durant les deux premières heures de contact.

A la concentration M/10 000, 50 % des Ascaris (4 sur 8) sont morts après cinq heures de contact. L'action débute assez tard; en effet, durant les trois premières heures de contact, aucun Ascaris n'était mort.

TABIEAU V

Sels de myristylpyridiniums

| X <sup>-</sup> | P M | Concentrat. | % de morts | temps utile |
|----------------|-----|-------------|------------|-------------|
| Bromure        | 356 | M/1 000     | 100        | 6 h         |
| Caprylate      | 419 | M/1 000     | 100        | 2 h         |
| Laurate        | 475 | M/1 000     | 75         | 2 h         |

III) Sels de cetylpyridiniums, M/1 000. Tableau VI.

1) Bromure (PM : 383)

Après trois heures, on note la mort de 8 Ascaris sur 10. Tous les Ascaris sont morts après cinq heures.

2) Caprylate (PM : 447)

5 Ascaris sur 6 sont morts en cinq heures.

3) Laurate (PM : 503)

Après cinq heures de contact deux Ascaris seulement sur 6 sont morts. Les autres sont très actifs et s'agitent vigoureusement dans le Tyrode à 60 °C.

TABEAU VI

Sels de cetylpyridiniums

| X <sup>-</sup> | P M | Concentrat. | % de morts | temps utile |
|----------------|-----|-------------|------------|-------------|
| Bromure        | 383 | m/1 000     | 100        | 5 h         |
| Caprylate      | 447 | m/1 000     | 82         | 5 h         |
| Laurate        | 503 | m/1 000     | 33         | 5 h         |

DISCUSSION

On note comme pour l'essai "in vitro" sur *Rhabditis macrocerca*, une certaine relation entre le poids moléculaire et le pouvoir anthelminthique : les produits les moins actifs sont ceux dont le poids moléculaire est le plus élevé. Les temps les plus longs sont nécessaires pour les composés à chaînes en C<sub>16</sub>.

Une seule irrégularité : la grande différence d'action des caprylates de triméthyllaurylammonium et triméthylmyristylammonium. Le premier sel à la concentration m/1 000, ne provoque la mort d'aucun *Ascaris* en 6 h, alors que le second à la même concentration, tue tous les *Ascaris* en expérience en 3 h 30. On peut, en outre remarquer qu'il est plus difficile de mettre en évidence les différences d'activité des divers produits étudiés par le test sur l'*Ascaris* entier que par le test sur les coprocultures de *Rhabditis macrocerca*.

On ne note que peu de différence d'activité entre les bromures d'une part et les sels à anions organiques d'autre part.

### III - Essais "in vitro" sur le segment antérieur d'Ascaris

Vous avons limité nos essais aux sels (bromures, caprylates et laurates) des ammoniums des deux séries à chaîne en  $C_{12}$  et  $C_{14}$ . Nous n'avons pas poursuivi l'essai des sels de la série en  $C_{16}$ . Ils sont peu solubles aux concentrations actives et se montrent nettement moins actifs que leurs homologues en  $C_{12}$  et  $C_{14}$ . Quelques essais témoins nous ont permis de le vérifier : Ainsi à la même concentration  $M/1\ 000$ , le laurate de laurylpyridinium entraîne la mort du segment antérieur en une heure environ. Le laurate de myristylpyridinium agit de même en 50'. Le laurate de cétylpyridinium n'a aucune action après 5 h.

#### A) Sels de triméthylalcoylammoniums.

##### 1) Bromures.

Le bromure de triméthylmyristylammonium (PM : 335) à la concentration  $M/100$  provoque la mort du segment antérieur en une demi-heure..

A la même concentration  $M/100$ , le bromure de triméthyllaurylammonium (PM:307) provoque seulement la paralysie du segment antérieur en une demi-heure. Les contractions reprennent immédiatement après lavage (fig. 1)

##### 2) Caprylates.

A la même concentration  $M/1\ 000$ , les deux sels de myristyl et laurylammoniums ont une action nettement différente.

Le sel de myristyle (PM : 399) entraîne la mort en un temps inférieur à une demi-heure.

Le sel de lauryle (PM : 371) se montre très peu actif. Après 2 h 30 de contact les contractions sont maintenues, à peine ralenties (fig. 2)

### 3) Laurates.

A la concentration M/100, le Laurate de  $(\text{CH}_3)_3$  myristylammonium (PM : 455) amène la paralysie en une demi-heure; puis les contractions reprennent brusquement. La mort n'est obtenue qu'après 1 h 45 de contact.

Le laurate de  $(\text{CH}_3)_3$  laurylammonium (PM : 427) à la concentration M/100 provoque la mort du segment antérieur en une demi-heure. A la concentration M/500, la mort n'est pas obtenue après 1 h 40 de contact. Les contractions reprennent immédiatement après lavage. (figure 3)

## B) Sels de pyridiniums.

### 1) Bromures.

A la concentration M/100, la mort est très rapide pour les deux sels de laurylpyridinium (PM : 328) et de myristylpyridinium (PM : 356).

A la concentration M/1 000, le bromure de laurylpyridinium semble provoquer la mort en moins de dix minutes. Après une demi-heure de contact, les contractions reprennent immédiatement après lavage.

Le bromure de myristylpyridinium M/1 000 provoque la paralysie en environ 40 minutes. Après lavage, on assiste à la reprise de contractions de très faibles amplitudes. (fig. 4)

### 2) Caprylates.

A la concentration M/1 000 la mort est obtenue en une heure environ pour les deux sels (PM : 391 et 419). (fig. 5)

### 3) Laurates.

Le laurate de myristylpyridinium M/1 000 (PM : 475) entraîne la mort du segment antérieur en 40 minutes environ.

Le laurate de laurylpyridinium M/1 000 (PM : 447) entraîne la mort en une heure environ (fig. 6)

Nous avons établi avec ce dernier sel les temps nécessaires pour entraîner la mort du segment antérieur en fonction de la concentration :

|         |        |      |         |
|---------|--------|------|---------|
| Il faut | 30'    | pour | M/100   |
|         | 45'    |      | M/500   |
|         | 1 h    |      | M/1 000 |
|         | 1 h 30 |      | M/2 000 |
|         | 3 h 30 |      | M/5 000 |

#### DISCUSSION

L'activité sur le segment antérieur d'*Ascaris* est parallèle à l'activité sur l'*Ascaris* entier. Nous retrouvons en particulier la même différence d'action dans le cas des caprylates de  $(\text{CH}_3)_3$  myristyle et  $(\text{CH}_3)_3$  laurylammoniums, le premier étant exceptionnellement actif. Il faut moins d'une demi-heure pour obtenir la mort à la concentration M/1 000. A la même concentration le caprylate de triméthyllaurylammonium est inactif sur le segment antérieur. Les contractions sont maintenues après 2 h 30 de contact.

Il faut cependant noter que les caprylates en  $\text{C}_{14}$  et  $\text{C}_{12}$  étaient tous deux très actifs sur *Rhabditis macrocerca*.

Pour une série homologue, les sels de pyridiniums semblent plus actifs. La mort est très rapide à la concentration M/100 pour les bromures de pyridiniums (temps inférieur à 1/4 d'heure).

Pour les sels de alcoylammoniums à la même concentration il faut une demi heure dans le cas du composé en  $\text{C}_{14}$  ; dans le cas du composé en  $\text{C}_{12}$ , la paralysie seule est obtenue en ce temps, les contractions reprennent après lavage.

Dans le cas des laurates, les différences d'action sont encore plus nettes. Le laurate de myristylpyridinium à la concentration M/1 000 entraîne la mort

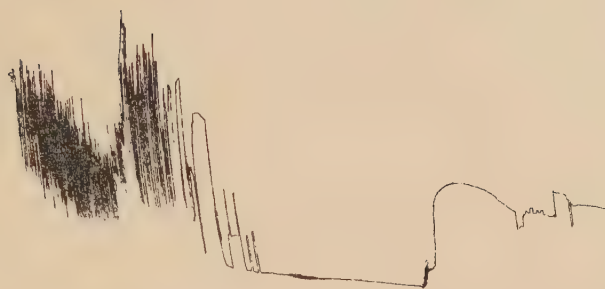
en 40 minutes. Il faut 1 h 40 dans le cas du sel de triméthylmyristylammonium et pour une concentration 10 fois plus forte (M/100).

Les laurates de laurylpyridiniums et triméthyllaurylammoniums à la concentration M/100 entraîne la mort en une demi-heure. A la concentration M/500 il faut 45 minutes dans le cas du premier sel et plus de 1 h 40 dans le cas du second.

Ce test ne permet pas de conclure à une activité plus grande des sels à anions organiques par rapport aux bromures.



figure 1



↑

30' ↓ lavages

Bromure de triméthylsilylammonium M/400



↑

30' ↓ lavages

Bromure de triméthylsilylammonium M/100



figure 2

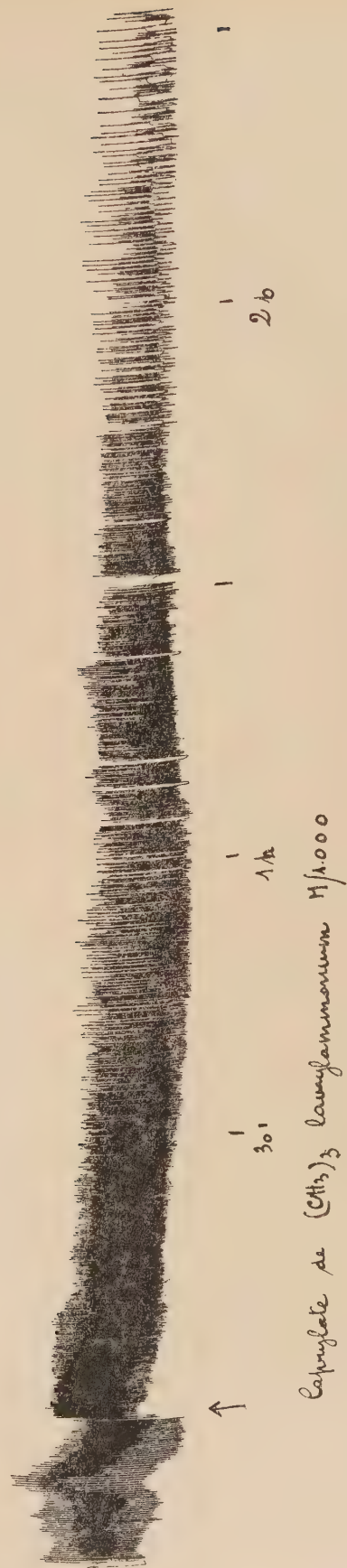
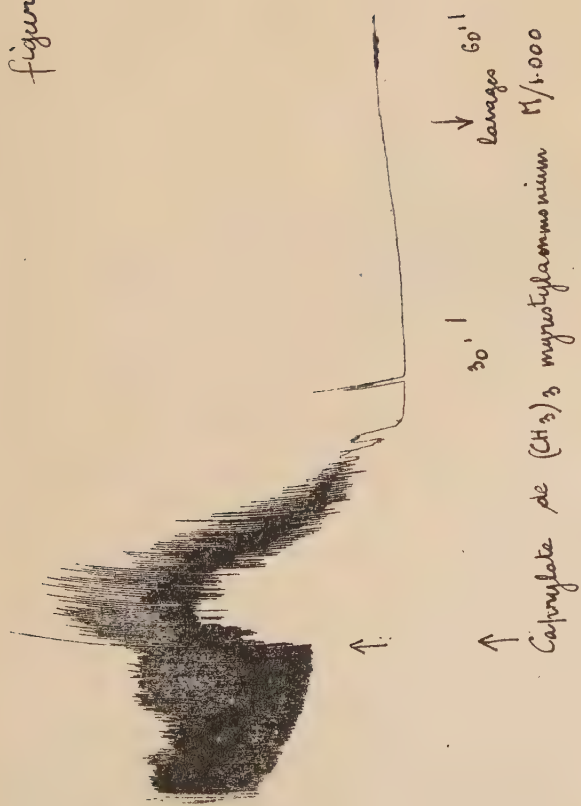




figure 3

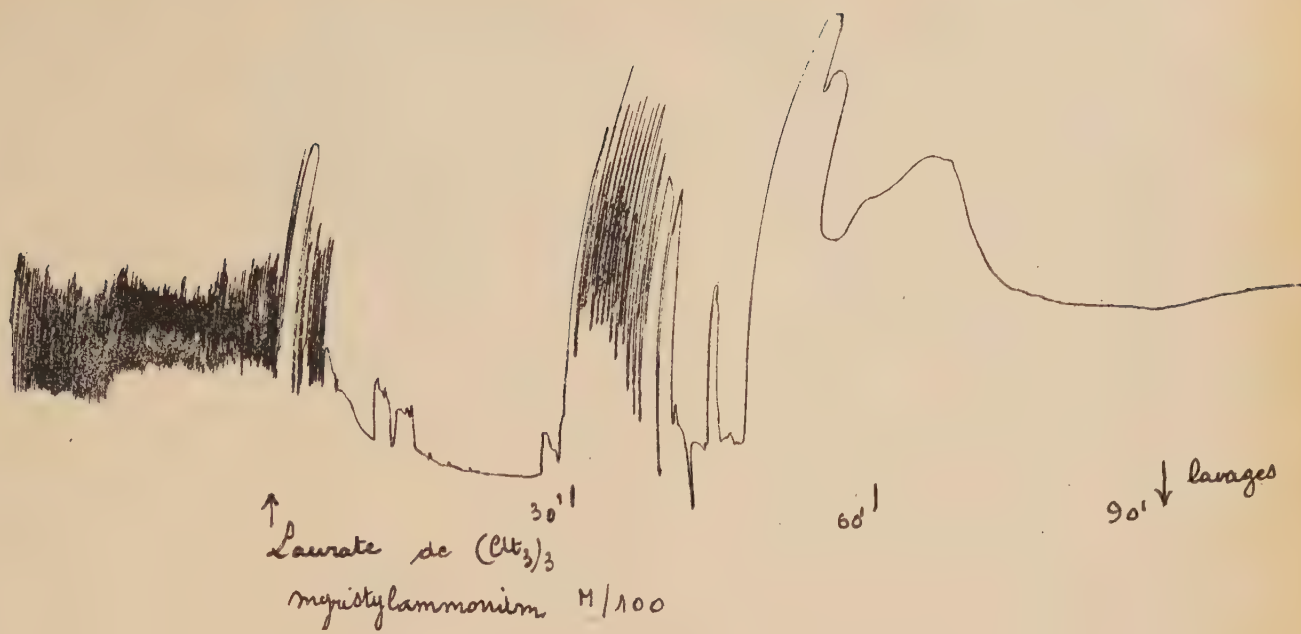
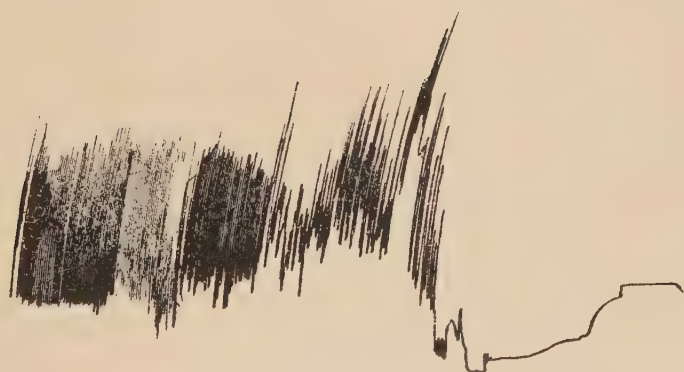


figure 3



↑  
Laurate de  $(\text{C}_{11}\text{H}_{23})_3$   
laurylammonium M/100

30' ↓ lavages



figure 4

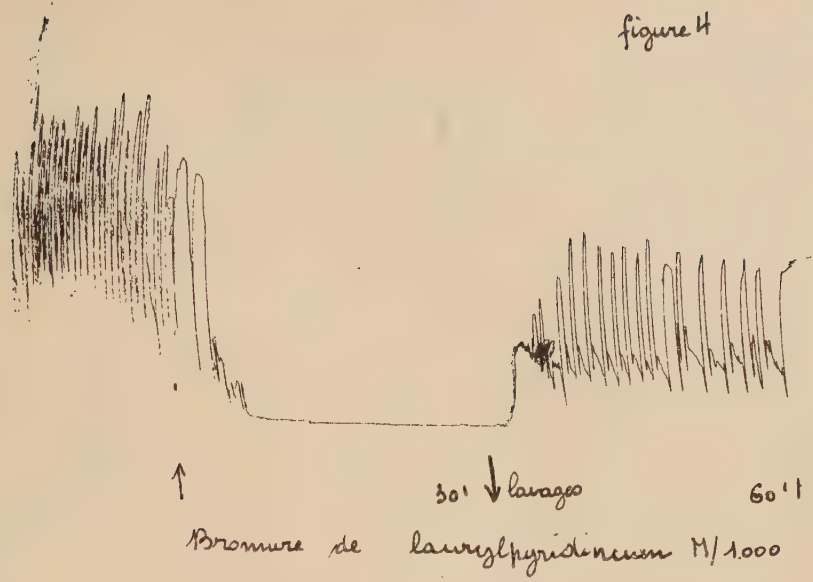
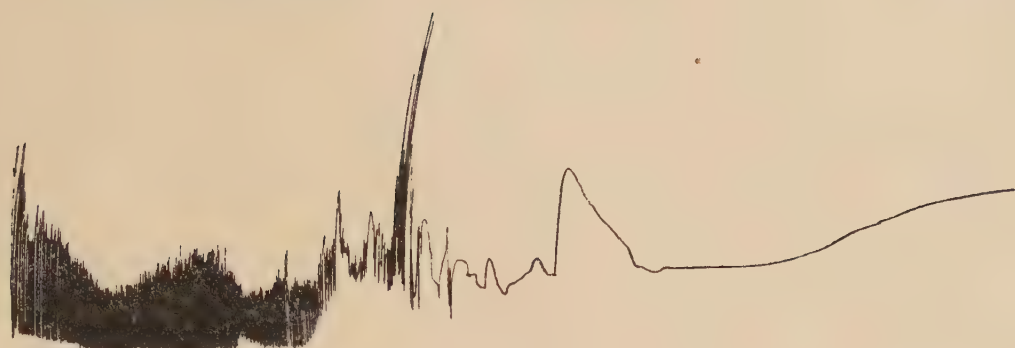


figure 4

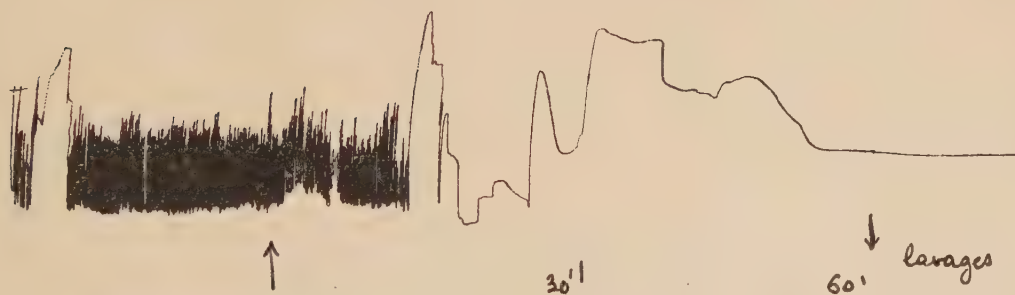




figure 5



↑ 30' 60' ↓ lavages  
Caprylate de laurylpyridinium M/1.000



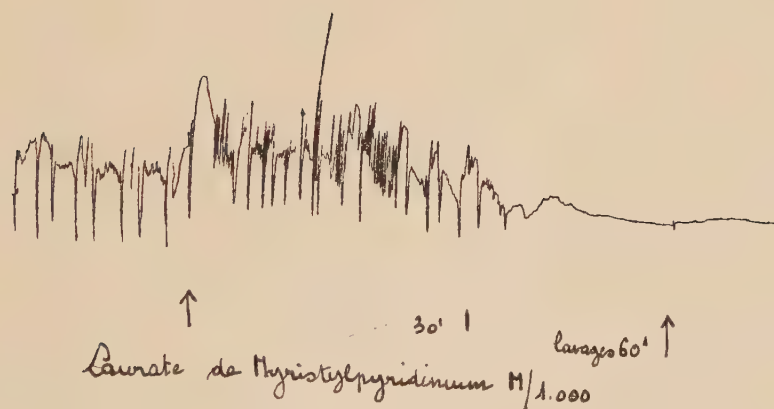
↑ 30' 60' ↓ lavages  
Caprylate de myristylpyridinium M/1.000



figure 6



figure 6





#### IV - Essais "in vivo" sur Syphacia obvelata.

Nous avons essayé d'une part les bromures et d'autre part les caprylates ( $C_8$ ) laurates ( $C_{12}$ ) et stéarates ( $C_{18}$ ) des ammoniums des deux séries à chaînes en  $C_{12}$  (lauryle) et  $C_{14}$  (myristyle).

Nous cherchons à déterminer la plus petite dose capable de déparasiter toutes les Souris en expérience. Les Souris reçoivent par voie orale 0 cc 25 de la solution ou suspension de sel à la concentration indiquée, pendant 4 jours consécutifs. Au total elles reçoivent 1 cm 3 de la solution 0,066 M, 0,04 M ou 0,02 M.

##### I) Sels de triméthyllaurylammoniums (Tableaux I et II).

###### 1) Bromure (PM : 307)

A la concentration 0,04 M (dose quotidienne administrée : 153,5 mg/kg), aucune Souris n'est déparasitée. Le sel se montre toxique : deux souris sur dix meurent en cours de traitement.

###### 2) Caprylate (PM : 371)

91 % des Souris en expérience (11 sur 12) sont déparasitées pour la concentration 0,04 M (dose journalière 185,5 mg/kg).

La concentration 0,066 M (dose journalière 310 mg/kg) provoque la mort de 7 Souris sur 10. Les trois Souris restant sont déparasitées; elles sont très maigres, présentent un ventre ballonné. A l'autopsie l'intestin est bourré de gaz. Ces mêmes symptômes se retrouveront pour tous les ammoniums aux doses toxiques.

###### 3) Laurate (PM : 427)

67 % des Souris (8 sur 12) sont déparasitées à la concentration 0,04 M (dose quotidienne 113,5 mg/kg).

A la concentration 0,066 M (dose quotidienne 356 mg/kg), 6 Souris meurent en cours de traitement, trois des quatre souris qui restent sont déparasitées.

4) Stéarate (P.M : 511)

83 % des Souris (10 sur 12) sont déparasitées à la concentration 0,04 M (dose quotidienne 255,5 mg/kg).

A la concentration 0,066 M (dose quotidienne 426 mg/kg) 6 Souris meurent avant la fin de la cure, trois souris des quatre qui ont résisté sont déparasitées.

Ces résultats sont exposés dans les tableaux I et II. Pour la concentration 0,066 M, nous n'avons pu établir de pourcentage de déparasitation, le nombre de souris ayant résisté à la cure étant trop faible (3 ou 4).

Essais d'activité "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABLERAU I

Sels de triméthyllaurylammoniums  
(0,04 M)

| X <sup>-</sup> | P.M | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>déparasit. | % de dé-<br>parasita-<br>tion |
|----------------|-----|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Bromure        | 307 | 153,5                          | 614                       | 10                                     | 8                                      | 0                                 | 0                             |
| Caprylate      | 871 | 185,5                          | 742                       | 12                                     | 12                                     | 11                                | 91                            |
| Laurate        | 427 | 213,5                          | 854                       | 12                                     | 12                                     | 8                                 | 67                            |
| Stéarate       | 511 | 255,5                          | 1 022                     | 12                                     | 12                                     | 10                                | 83                            |

Essais d'activité "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABLERAU II

Sels de triméthyllaurylammoniums  
(0,066 M)

| X <sup>-</sup> | P M | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>déparasit. |
|----------------|-----|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|
| Caprylate      | 371 | 310                            | 1 242                     | 10                                     | 3                                      | 3                                 |
| Laurate        | 427 | 356                            | 1 424                     | 10                                     | 4                                      | 3                                 |
| Stéarate       | 511 | 426                            | 1 704                     | 10                                     | 4                                      | 3                                 |

II) Sels de triméthylmyristylammoniums (Tableaux III et IV)

a) Bromure (PM : 355)

A la concentration 0,04 M (dose quotidienne 167,5 mg/kg) ce sel est nettement toxique. 5 Souris sur 10 meurent au cours du traitement. Aucune souris n'est totalement déparasitée.

b) Caprylate (PM : 399)

91 % des souris en expérience (10 sur 11) sont déparasitées pour la concentration 0,04 M, soit 199,5 mg/kg par jour. La concentration 0,066 M (332,5 mg/kg par jour) provoque la mort de six souris sur 10; trois des quatre dernières Souris sont déparasitées.

c) Laurate (PM : 455)

8 Souris sur 11 sont déparasitées (72 %) pour la concentration 0,04 M (Dose journalière 227,5 mg/kg).

A la concentration 0,066 M (dose journalière 379 mg/kg), on note la mort de 5 Souris sur 10. Les cinq autres sont déparasitées.

4) Stéarate.

4 Souris seulement sur 11 (36 %) sont déparasitées à la concentration 0,04M. (dose journalière 269,5 mg/kg).

Pour la concentration 0,066 M (450 mg/kg par jour), 7 souris sur 10 sont vivantes à la fin de la cure et totalement déparasitées.

Nos résultats sont exposés dans les tableaux III et IV. Pour la dose 0,066 M (tableau IV) nous n'avons pu établir le pourcentage de déparasitation, de trop nombreuses Souris ayant succombé au traitement.

Essais d'activité "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABLEAU III

Sels de triméthylmyristylammoniums

(0,04 M)

| X <sup>-</sup> | P M | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>déparasit. | % de dé-<br>parasi-<br>tation |
|----------------|-----|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Bromure        | 335 | 167,5                          | 670                       | 10                                     | 5                                      | 0                                 | 0                             |
| Caprylate      | 399 | 199,5                          | 798                       | 11                                     | 11                                     | 10                                | 91                            |
| Laurate        | 455 | 227,5                          | 910                       | 11                                     | 11                                     | 8                                 | 72                            |
| Stéarate       | 539 | 269,5                          | 1 078                     | 11                                     | 11                                     | 4                                 | 36                            |

Essais d'activité "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABEAU IV

Sels de triméthylmyristylammoniums

(0,066 M)

| X <sup>-</sup> | PM  | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | nombre de<br>souris dé-<br>parasitées |
|----------------|-----|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|
| Caprylate      | 399 | 332,5                          | 1 330                     | 10                                     | 4                                      | 3                                     |
| Laurate        | 455 | 379,75                         | 1 517,5                   | 10                                     | 5                                      | 5                                     |
| Stéarate       | 439 | 450                            | 1 800                     | 10                                     | 7                                      | 7                                     |

III) Sels de laurylpyridiniums (Tableaux V et VI)

1) Bromure (PM : 328)

A la concentration 0,02 M (dose quotidienne 82 mg/kg) deux Souris meurent au cours de la cure. Aucune Souris n'est déparasitée.

2) Caprylate (PM : 391)

Deux Souris meurent pendant le traitement pour la concentration 0,02 M (dose quotidienne 97,75 mg/kg). Aucune Souris n'est déparasitée.

A la concentration 0,04 M (dose quotidienne 195,5 mg/kg), on note la mort de cinq Souris sur 10. Trois Souris des cinq qui restent sont déparasitées.

### 3) Laurate (PM : 447)

A la concentration 0,02 M (dose quotidienne 111,75 mg/kg), 8 Souris sur 10 sont vivantes à la fin de la cure. 3 seulement sont déparasitées (37,5 %)

Pour la concentration 0,04 M (dose quotidienne 223,5 mg/kg) toutes les Souris sont vivantes (10 sur 10) à la fin de la cure. Elles présentent des symptômes d'intoxication évidents : maigreur, ventre ballonné, diarrhées. Deux seulement sont totalement déparasitées.

### 4) Stéarate (PM : 531)

A la concentration 0,02 M (dose quotidienne administrée 132,75 mg/kg) 8 Souris sur dix sont vivantes en fin de cure. Une seule est déparasitée (12,5 %).

Pour la concentration 0,04 (dose journalière 265,5 mg/kg) 5 Souris sur dix restent vivantes. Trois seulement sont totalement déparasitées.

Nos résultats sont exposés dans les tableaux V (0,02 M) et VI (0,04 M). Pour cette dernière concentration toxique, le pourcentage de déparasitation n'a pu être établi, les Souris ayant résisté en trop petit nombre au traitement.

Essais d'activité "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABEAU V

Sels de laurylpyridiniums

(0,02 M)

| X <sup>-</sup> | P M | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>déparasit. | % de dé-<br>parasi-<br>tation |
|----------------|-----|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Bromure        | 328 | 82                             | 328                       | 10                                     | 8                                      | 0                                 | 0                             |
| Caprylate      | 391 | 97,75                          | 391                       | 10                                     | 8                                      | 0                                 | 0                             |
| Laurate        | 447 | 111,75                         | 447                       | 10                                     | 8                                      | 3                                 | 37,5                          |
| Stéarate       | 531 | 132,75                         | 531                       | 10                                     | 8                                      | 1                                 | 12,5                          |

Essais d'activité "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABEAU VI

Sels de laurylpyridiniums

(0,04 M)

| X <sup>-</sup> | P M | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>déparasit. |
|----------------|-----|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|
| Caprylate      | 391 | 195,5                          | 782                       | 10                                     | 5                                      | 3                                 |
| Laurate        | 447 | 223,5                          | 894                       | 10                                     | 10                                     | 2                                 |
| Stéarate       | 531 | 265,5                          | 1 062                     | 10                                     | 5                                      | 3                                 |

#### IV) Sels de myristylpyridiniums (Tableaux VII et VIII)

##### 1) Bromure (PM : 356)

A la concentration 0,02 M (dose journalière 89 mg/kg) aucune Souris n'est déparasitée. Deux Souris meurent en cours de traitement, les autres présentent des symptômes d'intoxication.

##### 2) Caprylate (PM : 419)

Aucune Souris n'est déparasitée pour la concentration 0,02 M ou 0,04 M soit respectivement pour 104,25 et 209,5 mg/kg par jour.

4 Souris sur 10 meurent dans le premier cas. Une seule Souris est vivante en fin de cure pour la concentration 0,04 M.

##### 3) Laurate (PM : 475)

Aucune Souris n'est déparasitée pour 0,02 ou 0,04 M (respectivement 118,75 et 237,5 mg/kg par dose quotidienne).

Trois Souris meurent pendant la cure dans le premier cas. A la concentration 0,04 M 9 souris sur dix meurent avant la fin du traitement.

##### 4) Stéarate (PM : 560)

Ce produit ne déparasite aucune Souris. Pour la concentration 0,02 M (dose quotidienne 140 mg/kg) on note la mort de 2 Souris sur 10.

Pour la concentration 0,04 M (dose quotidienne 280 mg/kg) deux Souris sur dix résistent à la cure.

Nos résultats sont exposés dans les tableaux VII (0,02 M) et VIII (0,04 M). Pour cette dernière dose nous n'avons pas fait figurer le pourcentage de déparasitation; dans le cas le plus favorable deux Souris seulement ont résisté au traitement.

Essais d'activité "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABLEAU VII

Sels de myristylpyridiniums

(0,02 M)

| X <sup>-</sup> | P M | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | nombre de<br>souris dé-<br>parasitées | % de dé-<br>parasi-<br>tation |
|----------------|-----|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| Bromure        | 356 | 89                             | 356                       | 10                                     | 8                                      | 0                                     | 0                             |
| Caprylate      | 419 | 104,25                         | 419                       | 10                                     | 6                                      | 0                                     | 0                             |
| Laurate        | 475 | 118,75                         | 475                       | 10                                     | 7                                      | 0                                     | 0                             |
| Stéarate       | 560 | 140                            | 560                       | 10                                     | 8                                      | 0                                     | 0                             |

Essais d'activité "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABLEAU VIII

Sels de myristylpyridiniums

(0,04 M)

| X <sup>-</sup> | P M | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | nombre de<br>souris dé-<br>parasitées |
|----------------|-----|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|
| Caprylate      | 419 | 209,5                          | 838                       | 10                                     | 1                                      | 0                                     |
| Laurate        | 475 | 237,5                          | 950                       | 10                                     | 1                                      | 0                                     |
| Stéarate       | 560 | 280                            | 1 120                     | 10                                     | 2                                      | 0                                     |

Essais d'activité "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABLEAU IX

Sels de triméthylalcoylammoniums

(pourcentage de déparasitation pour la concentration 0,04 M)

| X <sup>™</sup> | R               |                 |
|----------------|-----------------|-----------------|
|                | C <sub>12</sub> | C <sub>14</sub> |
| Bromure        | 0               | 0               |
| Caprylate      | 91              | 91              |
| Laurate        | 67              | 72              |
| Stéarate       | 83              | 36              |

DISCUSSION

Sels de triméthylalcoylammoniums.

En résumé, nous n'avons jamais obtenu la déparasitation totale des Souris en expérience pour les doses non toxiques (0,04 M)

On note cependant une action supérieure des sels d'acides organiques par rapport aux bromures et une toxicité moindre. A la dose 0,04 M, aucune Souris ne meurt en cours de traitement dans le cas des sels à anions organiques. 20 % des Souris, par contre, succombent dans le cas du bromure de triméthyllaurylammonium. Ce pourcentage s'élève à 50 % pour le bromure de triméthylmyristylammonium.

L'activité des sels d'acides gras est nette à cette dose 0,04 M. Les pourcentages de déparasitation varient de 91 % pour les caprylates en  $C_{12}$  et  $C_{14}$ , 67 et 72 % pour les laurates en  $C_{12}$  et  $C_{14}$ , à 83 et 36 % pour les stéarates en  $C_{12}$  et  $C_{14}$ . (Tableau IX). Les bromures à la concentration 0,04 M sont absolument inactifs. A la concentration 0,066 M, les sels d'acides gras de triméthylalcoylammoniums sont toxiques. Le pourcentage de morts varie entre 30 et 70 %.

#### Sels d'alcoylpyridiniums.

Ces sels se montrent plus toxiques et moins actifs que les sels correspondants de triméthylalcoylammoniums.

A la concentration 0,04 M les pourcentages de Souris mortes sont très élevés (50 à 90 % des animaux en expérience). A cette dose, seul le laurate de laurylpyridinium n'entraîne la mort d'aucune Souris. Mais celles-ci sont après la cure dans un état général très défectueux. Il faut noter qu'à la dose deux fois plus faible (0,02 M) deux souris meurent en cours de traitement.

A cette même concentration (0,04 M) les pourcentages de déparasitation sont faibles. Aucune Souris n'est déparasitée dans le cas des sels de myristylpyridiniums. 3 Souris sur 5 restant en fin de cure sont déparasitées sous l'action des caprylate et stéarate de laurylpyridiniums. Le laurate déparasite 2 sur 10 des Souris.

A la concentration 0,02 M le laurate de laurylpyridinium déparasite trois Souris sur les huit en traitement.

Essais "in vivo" sur Syphacia obvelata

(voie rectale)

Le pouvoir anthelminthique "in vivo" des sels d'ammoniums quaternaires est faible compte tenu de la grande toxicité de ces produits. Nous avons essayé de préciser l'incidence que pourrait avoir sur l'activité et la toxicité, le choix d'une autre voie d'introduction des produits. La voie rectale met en effet les produits à l'abri des enzymes intestinaux et de toutes les molécules lipidiques et protéiques susceptibles d'inhiber les ammoniums quaternaires.

Nous avons donc poursuivi l'essai des laurate  $(CH_3)_3$  lauryl et myristylammoniums par voie rectale aux concentrations 0,066 et 0,04 M. Les Souris reçoivent la même quantité de produit que par voie orale, mais sous un volume de  $0^{cc}75$ , (au lieu de  $0^{cc}25$ ), volume nécessaire à remplir le caecum des souris. La cure dure aussi quatre jours.

Nos résultats sont exposés dans les tableaux X et XI.

De ces essais, on peut conclure que la toxicité des sels d'alcoylammoniums est moins élevée lorsque ces substances sont administrées par la voie rectale. Aucune Souris ne meurt pendant le traitement et elles conservent un excellent état général.

D'autre part leur activité est très nettement accrue puisque dans tous les cas, aux concentrations utilisées, tous les animaux sont complètement déparasités. Cela semble dû au fait que le produit est, de cette manière, directement porté au contact des parasites dans le gros intestin et ne subit pas l'action des enzymes digestifs et que son action n'est pas inhibée par les produits du contenu intestinal.

Essais "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABEAU X

(Voie orale)

|                                                                       | P M | Concent.<br>Pourcent. | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>déparasit. | % de dé-<br>parasi-<br>tation |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|-----------------------|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Laurate de<br>(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub><br>lauryl<br>ammonium   | 427 | 0,04 M                | 213,5                          | 854                       | 12                                     | 12                                     | 8                                 | 75                            |
|                                                                       |     | 0,066 M               | 356                            | 1 424                     | 10                                     | 4                                      | 3                                 | 75                            |
| Laurate de<br>(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub><br>myristyl<br>ammonium | 455 | 0,04 M                | 227,5                          | 910                       | 11                                     | 11                                     | 8                                 | 72                            |
|                                                                       |     | 0,066 M               | 379,75                         | 1 575,5                   | 10                                     | 5                                      | 5                                 | 100                           |

Essais "in vivo" sur *Syphacia obvelata*

TABEAU XI

(voie rectale)

|                                                                       | P M | Concent. | Dose<br>quotidienne<br>(mg/kg) | Dose<br>totale<br>(mg/kg) | Nombre de<br>souris<br>avant<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>après<br>trait. | Nombre de<br>souris<br>déparasit. | % de dé-<br>parasi-<br>tation |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|----------|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Laurate de<br>(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub><br>lauryl<br>ammonium   | 427 | 0,04 M   | 213,5                          | 854                       | 8                                      | 8                                      | 8                                 | 100                           |
|                                                                       |     | 0,06 M   | 356                            | 1 424                     | 10                                     | 10                                     | 10                                | 100                           |
| Laurate de<br>(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub><br>myristyl<br>ammonium | 455 | 0,04 M   | 227,5                          | 910                       | 9                                      | 9                                      | 9                                 | 100                           |
|                                                                       |     | 0,066 M  | 379,75                         | 1 517,5                   | 10                                     | 10                                     | 10                                | 100                           |

## RESUME ET CONCLUSIONS

Dans notre travail, nous avons surtout cherché à mettre en évidence une différence dans l'activité anthelminthique des halogénures d'une part et des sels à anions organiques peu solubles d'ammoniums quaternaires d'autre part.

Le test "in vitro" sur *Rhabditis macrocerca* permet de faire deux constatations :

- 1) Les sels à anions organiques sont plus toxiques pour *Rhabditis* que les bromures.
- 2) Dans une même série homologue, les sels à poids moléculaire plus faible sont les plus actifs. L'activité décroît régulièrement à mesure que s'élève le nombre d'atomes de carbone de l'anion. D'autre part, les composés à chaîne en  $C_{12}$  et  $C_{14}$  sont plus actifs que les composés en  $C_{16}$ .

Les tests "in vitro" sur l'*Ascaris* entier et le segment antérieur ne permettent pas de conclure à une activité différente des bromures par rapport aux sels à anions organiques. Par contre, on note dans l'étude des résultats, une sensibilité beaucoup plus grande de l'*Ascaris* à l'action des sels de pyridiniums. Ils sont beaucoup plus toxiques que les sels correspondants de triméthylalcoylammoniums (activité dix fois supérieure en général).

Des essais "in vivo", nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- 1) L'activité est certaine pour les sels de triméthylalcoylammoniums à anions organiques à la concentration 0,04 M. Ils sont beaucoup plus actifs que les bromures à la même concentration et se révèlent moins toxiques.
- 2) Les sels de alcoylpyridiniums sont très toxiques et moins actifs que les sels de triméthylalcoylammoniums. A la concentration 0,04 M, ces derniers sont actifs et ne causent la mort d'aucune Souris. Par contre, avec les sels d'alcoylpyridiniums on note une mortalité de 80 % en moyenne et un

manque à peu près total de pouvoir anthelminthique. (Tableaux VI et VIII)

Il faut donc malheureusement conclure que la présence d'un anion organique dans les sels d'ammoniums quaternaires à longue chaîne a peu d'incidence sur le pouvoir anthelminthique "in vivo". Surtout elle n'a pas d'incidence sur l'activité toxique de ces molécules. Dans une publication récente, GAUTIER (42) expose des conclusions analogues en ce qui concerne l'étude du pouvoir bactériostatique de ces ammoniums. Cette indifférence de l'anion est inattendue, car on pouvait espérer que la faible solubilité des produits essayés sur *Syphacia obvelata* les mettrait à l'abri de l'action des enzymes et surtout retarderait la formation de complexes avec les molécules lipido-protéiques du contenu intestinal. Il semble bien en effet que les ammoniums soient inactivés durant le transit intestinal : Introduits directement par voie rectale au contact des parasites, ils se montrent très actifs et ne sont pas toxiques (Tableaux X et XI).



BIBLIOGRAPHIE

1 . AMES (D.E) et coll.

Synthetic long chain aliphatic compounds. IX  
Some antituberculous long chain amines

J. chem. Soc., 1952, p. 1057-68

2 . BALDWIN (E.)

An in vitro method for the chemotherapeutic investigation of anthelmintic potency.

Parasitology, 1943, 35 p. 89-111

3 . BALDWIN (E.) et DOYLE (V.)

An isolated nerve muscle preparation from *Ascaris lumbricoides*.

J. of. Experim. Biol, 1947, 23, p. 277-291

4 . BOECKER (H.)

Die Larven der Oxyuren und ihre Bedeutung für die Therapie zur Pharmakotherapie der Oxyuriasis.

Arzneimit. Forsch., 1952, 2 , p. 378-381

5 . BOECKER (H.)

Die entwicklung der Kanunchenoxyuren, *Passalurus ambiguus*.

Zeitsch. f. Parasitenkunde, 1953, 15, p. 491-518

6 . BOECKER (H.) et ERHARDT (A.)

Chemotherapeutische untersuchungen an der naturlichen Oxyureninfektionen der Maus zur Testierung von Oxyurenmitteln.

Z. Tropenmed. Parasitol., 1955, 6 , p. 198-206

7 . BRACKETT (S.) et HLIZNICK (A.)

Screening large numbers of new chemical compounds for anthelmintic activity using infections with *Nippostrongylus muris* in mice.

J. Parasitol., 1949, 35 , p. 8-18

cités par CAVIER (N° 13)

8 . BROWN (H.W.), CHAN (K.F.), FERREL (B.D.)

A study of the activity of chemotherapeutic agents on Infections of *Syphacia obvelata* and *Apicularia tetraptera*.

Experiment. Parasitol., 1954, 3 , p. 45-51

9 . BRÜCKE (F.) et SARKANDER (H.)

Untersuchungen am Blutegel über den Angriffspunkt Santonins und anderer aus. Käleregenger Stoffe.

Arch. für Exp. Path. u. Pharmacol., 1940, 195 , p. 79-88

Cités par CAVIER (13)

10. CAVIER (R.)

Les nouveaux médicaments anthelminthiques.

Ann. pharm. fr., 1946, 4 , p. 122

11. CAVIER (R.)

Recherches dans le domaine des anthelminthiques.

Gazette médicale de France, 1951, (Bilan thérapeutique),  
p. 85-94

12. CAVIER (R.)

Acquisitions récentes concernant les anthelminthiques et leur étude pharmacodynamique. - Actualités pharmacologiques

1952, 5ème série, p. 1-40 - (Masson - Paris)

13. CAVIER (R.)

Les méthodes pharmacodynamiques d'essai des anthelminthiques.

Technique pharmaceutique, 1957, 2 , p. 1

14. CAVIER (R.)

La part des antibiotiques dans le traitement des maladies parasitaires.

Thérapie 1958, 13 , p. 296-343

15. CAVIER (R.) et DEBELMAS (A.M.)

Etude expérimentale du pouvoir anthelminthique de certains aldéhydes aromatiques.

Bull. Soc. Path. Exot., 1956, 49 , p. 637-640

16. CAVIER (R.) et GAULIN (J.)

Recherches sur les propriétés anthelminthiques de la pipérazine et de quelques uns de ses dérivés.

Tunisie médicale, juillet 1951.

17. CAVIER (R.) et SABEL (J.)

La survie in vitro en milieu aseptique de l'*Ascaris* du Porc.

C.R. Ac. Sc., 1952, 234 , p. 1403-1405

18. CAVIER (R.) et SABEL (J.)

Les conditions de vie de l'*Ascaris* du Porc, *Ascaris lumbricoïdes*, hors de l'organisme de l'hôte, en milieu aseptique.

Ann. Sc. Nat. (Zool.), 1953, IIe série, p. 57-70

19. CHAN (K.F.)

Life cycle studies of the nematode, *Syphacia obvelata*.

Ann. Journ. of Hygiene, 1952, 56 , p. 14-21

20. CHAN (K.F.)

Chemotherapeutic studies on *Syphacia obvelata* infection in mice.

Amer. Journ. of Hygiene, 1952, 56 , p. 22-30

21. CHAN (K.F.)

Methods for securing infective eggs of *Syphacia obvelata* from infected mice.

J. Parasitol. 1956, 52, p. 19

22. CHANCE (M.R.A.) et HANSOUR (T.E.)

A kymographic study of the action of drugs on the Liver fluke (*Fasciola hepatica*).

Brit. J. Pharmacology, 1949, 4, p. 7-13

Cités par CAVIER (13)

23. CHEVALIER (J.)

Recherches pharmacologiques et thérapeutiques sur les Pyréthrinés.

Bull. Soc. Therap., 1932, 37, p. 6-26

23 bis. COLICLIANN (E.L.)

Conductance of long chain quaternary salts in bromophenolate blue solutions.

J. Amer. Chem. Soc., 1950, 72, p. 1834-1835

Cité par RENAULT (75)

24. DEBELLEAS (A.M.)

Contribution à l'étude du pouvoir anthelminthique des essences végétales et de certains de leurs constituants.

thèse pharmacie, Paris, 1953

25. DERVICHIAN (P.G.)

Des conditions d'action des substances dites "superficiellement actives" sur les microorganismes.

Ann. Inst. Pasteur, 1950, 78, p. 509-623

Cité par RENAULT (75)

26. DESCHIEENS (R.)

L'action anthelminthique des colorants triphénylméthaniques.

Bull. Soc. Path. Exot., 1944, 37, p. 111-125

27. DESCHIEENS (R.)

Etude d'un test de détermination des propriétés anthelminthiques des dérivés triphénylméthaniques.

C.R. Soc. Biol., 1944, 138, p. 201-202

28. DESCHIEENS (R.)

Les propriétés anthelminthiques des dérivés triphénylméthaniques.

La Presse médicale, 1944, 52, n° 11, p. 315-317

29. DESCHIEENS (R.)

Sur les conditions expérimentales d'évolution et d'éclosion des oeufs d'Oxyuridés.

Bull. Soc. Path. Exot., 1944, 37, p. 310-314

29 bis. DOMAGK (G.)

Deut. Med. Wochschr., 1935, 61, p. 829

Cité par RENAULT (75)

30. DUGUID (A.M.E.) et HEATHCOTE (R.St.A.)

The action of drugs in vitro on Cestodes : Anthelminthics

Arch. Int. Pharmacod., 1950 82, p. 309-330

31. EICHHOLTZ ( ) et HOTOVY (R.)

Ueber die Pharmakologie und Toxicologie der Egressin Schweitz. Med. Wochschr., 1950, 80, p. 736-737.

cités par CAVIER (13)

32. ERHARDT (A.)

Testierungsmethode Ancylostomawirksamer - Präparate und chemotherapeutische Untersuchungen an der Ancylostomiasis der Katze.

Arch. Schiffs u. Tropenhyg., 1938, 42 , p. 108-118

33. ERHARDT (A.)

Chemotherapeutische Untersuchungen mit 430 K<sub>1</sub>, einem Spezifikum mit grossen therapeutischen Index gegen die Ancylostomiasis, Trichuriasis, Ascaridiose und Taeniose der Katze.

Deut. Tropen. Med. Zeitschr. , 1941, 45 , p. 449-456

34. ERHARDT (A.)

Die biologischen Grundlagen für die klinische Beurteilung der Wirkung von Oxyurenmitteln.

Die Pharmazie, 1947, 2 , p. 104-109

35. ERHARDT (A.)

Die chemotherapeutische Prüfung von Wurmmitteln.

Die Pharmazie, 1948, 3 , p. 49-58

36. ERHARDT (A.)

Chemotherapeutische Untersuchungen an der Kaninchen Oxyuriasis mit Piperazin hydrat.

Arzneimit. Forsch., 1955, 5 , p. 350-351

37. ERHARDT (A.)

Chemotherapeutische Untersuchungen an der Spulwurminfection der Katze mit Piperazin hydrat.

Arzneimit. Forsch., 1956, 6 , p. 496-497

38. ERHARDT (A.) et DENECKE (K.)

Recherches de chimiothérapie sur la Strongyloïdose des Rats.

Ann. de Parasit., 1939, 17 , p. 199-205

39. ERHARDT (A.) et GEISER (A.M.)

Testierungsmethode für Oxyurenpräparate und chemotherapeutische Untersuchungen mit 430 K<sub>1</sub> an der Oxyuriasis des Kaninchens.

Deut. Tropen. Med. Zeitschr., 1941, 45, p. 531-541

40. FOLEY (E.J.) et LEE (S.W.)

Trimethylcetylammonium pentachlorophenate (T.C.A.P.) and fatty acids as Antifungal.

J. Am. Pharm. Ass., 1947, 36, p. 198-202

Cités par GAUTIER (43)

41. GAULIN (J.)

Etude critique des méthodes biologiques d'essai des anthelminthiques. Application à quelques sels de l'éthylène diamine, de la pipérazine, de la pipéridine et de la morpholine.

Thèse pharmacie, Paris, 1954

42. GAUTIER (J.A.)

L'activité bactériostatique des sels d'ammoniums quaternaires. Indifférence de l'anion.

Bull. Ac. Nat. Med., 1956, n° 5 et 6, p. 86

43. GAUTIER (J.A.), RENAULT (J.), LEROI (E.)

Ammoniums quaternaires à anions organiques : série des triméthylalcoylammoniums à longue chaîne.

Bull. Soc. Chim. Fr., 1955, 84, p. 634-636

44. GAUTIER (J.A.), LEROI (E.), RENAULT (J.)

Ammoniums quaternaires à anions organiques : série des pyridiniums à longues chaînes.

Bull. Soc. Chim. Fr., 1955, 84, p. 1202-1204

45. GREENE

Chemical constitution and anthelmintic action.

J. Am. Pharm. Assoc., 1931, 20 , p. 20-26

46. GUILHON (J.)

Essais de traitement des oxyuroses par la thiodiphenylamine.

Bull. Soc. Path. Exot., 1945, 38 , p. 279-288

47. GUILHON (J.)

Recherches sur les propriétés anthelminthiques du Thionol.

Bull. Ac. Vétérin., 1947, 20 , p. 263-267

48. GUILHON (J.)

Propriétés anthelminthiques d'un dérivé de la pipérazine.

Bull. Ac. Vétérin., 1949, 22 , p. 361-363

49. GUILHON (J.)

Propriétés anthelminthiques de l'ester amylophénolique de l'acide propionique.

Bull. Ac. Vétérin., 1954, 27 , p. 113-115

Cité par CAVIER (13)

50. HALL (M.C.)

Carbon tetrachloride for the removal of parasitic worms, specially hookworms.

J. Agricult. Reserch., 1921, 21 , p. 157-175

51. HALL (H.C.) et SCHILLINGER (J.)

Tetrachlorethylene, a new anthelmintic.

Ann. Journ. Tropen. Med., 1925, 5 , p. 229-237

Cités par CAVIER (13)

52. HINZ et SILBERSTEIN

Untersuchungen am Kymographiön über die Wertigkeit von oleum chenopodii und seinen Bestandteilen Ascaridol und Paracymol und Vergleich zu Thymol und Santonin.

Arch. J. Wiss. u. Prakt. Tierheilk., 1925, 52, p. 1-17

Cité par CAVIER (13)

53. HSIEH (K.Y.N.)

The effect of the standard Pinworm chemotherapeutic agents on the mouse Pinworm *Aspicularis tetraptera*.

Ann. J. Hygiene, 1952, 56, p. 287-293

53 bis. JACOBS (W.A.), HEIDELBERGER (M.)

J. Biol. Chem., 1915, 20, p. 659 et 685 - 1916, 21, p. 403 et 465

cité par RENAULT (75)

54. JENKINS (G.L.) et LAVAN-MANCHEY (L.)

Rational use of earthworms for the evaluation of vermicides.

J. Ann. Pharm. Assoc., 1936, 25, p. 194-201

55. KNIGHT (G.A.) et SHAW (B.O.)

The long-chain alkylpyridines and their derivatives. New examples of liquid crystals.

J. Chem. Soc., 1938, p. 682-683

56. KUCHENLEISTER

Eine Revision der Anthelmintica

Arch. f. Physiol. Hielkunde, 1851, 10; 630-659

57. KUDICKE (R.)

Neue Verfahren zur Untersuchung und Prüfung von Wurmmitteln. Versuche an Finnen und Strongloides larven.

Arch. f. Schiffss. u. Tropenhygiene, 1925, 29, p. 189

Cité par CAVIER (13)

58. LAMSON (F.O.) et BROWN (H.W.)

Methods of testing anthelmintic properties on Ascarides.

Amer. J. Hygiene, 1936, 23 , p. 85-103

59. LAMSON (P.D.) et WARD (C.B.)

The chemotherapie of Helminth infestations.

J. Parasit. 1932, 18 , p. 178-199

60. LAMSON (P.D.) et WARD (C.B.)

Earthworms as test objects for determining the value of drugs to be use in human intestinal Helminth infestations.

Science, 1936, 84 , p. 293-294

61. LEIPER (J.W.G.)

The testing of anthelmintics with particular reference to the development of new agents.

Vet. Rec., 1952, 54 , p. 438-439 - Cité par CAVIER (13)

62. MACKIE (A.) et PARNELL (I.W.)

A comparaisn of the results of four in vitro anthelmintic testing.

Journ. Pharm. and Pharmacol., 1955, 7 , p. 415-420

63. MACKIE (A) et STEWART (G.M.)

In vitro testing of chemical compounds against vinegar eellworm (Tur-batrix aceti) attempted correlation of anthelmintic effect and chemical constitution.

Arch. Int. Pharmacodyn., 1955, 102 , p. 476-486

64. MACKIE (A.) et STEWART (G.M.)

In vitro testing of benzothiazoles and some phenothiazine derivatives against Ascaris Lumbricoides and Liver Fluke (Fasciola Hepatica)

Arch. Int. Pharmacodyn., 1955, 103 , p. 187-191

65. MIURA (K.)

Studies on chemotherapy agents hookworm disease. On the effect of 1-Bromo-1- $\beta$ -naphthol.

Jap. Med. Sc. Biol., 1954, 7, p. 265-273

Cité par CAVIER (13)

66. MOUTON (R.)

Dosages chimiques et rapides essais pharmacodynamiques du Semen contra;

Thèse pharmacie, Paris, 1930

67. NEELY (J.S.) et DAVY (E.D.)

The anthelmintic properties of pepo U.S.P. and cucurbita pepo.

J. Am. Pharm. Ass., 1931, 20, p. 555-557

68. OELKERS (H.A.) et RATHJE (W.)

Zur Wirkungsweise der Anthelminthica.

Arch. Exp. Path. u. Pharmacol., 1941, 198, p. 317-337

69. PAUTRIZEL (M.R.)

Les tests biologiques dans la pharmacodynamie des anthelminthiques.

Revue Zool. Agricole, 1946, N° 1, p. 12

70. PRINCE (M.J.R.)

Studies the cycle life of Syphacia obvelata, a common Nematode of Rats

Science, 1950, 111, p. 66-67

71. POLONOVSKI (J.) et MACHEBOEUF (M.)

Action des savons à cation actif sur les protéines.

Ann. Inst. Pasteur, 1948, 74, p. 196-208

Cités par RENAULT (75)

72. REBELLO (S.) et TOSCANO RICO (J.)

La réactivité des Helminthes étudiée par la méthode graphique.

C.R. Soc. Biol., 1926, 94, p. 915

73. REBELLO (S.), DA COSTA (G) et TOSCANO RICO (J.)

Différences de réaction du Ver de terre et des Helminthes de l'Intestin

C.R. Soc. Biol. 1928, 98, p. 1021

74. REBELLO (S.), DA COSTA (G.) et TOSCANO RICO (J.)

Helmintiases e anti helminticos

IIIe Congreso Nacional de Medicina, Lisbonne, 1928

75. RENAULT (J.)

Les ammoniums quaternaires comme conservateurs alimentaires.

Critique de leur emploi et détection.

Mises au point de chimie analytique et d'analyse bromatologique.

1954, IIe série, Masson, Paris, p 54-75

76. RIEDEL (B.B.) et BARBER (C.W.)

The anthelmintic activity of quaternary ammonium compounds on chickens infected with *Ascaridia galli*. Poultry Sc.,

1949, 28, p. 830-833

77. ROGERS (W.P.)

Studies on the anthelmintic activity of hexylresorcinol and tetrachlorethylene.

Parasitology, 1944, 36, p. 98-109

78. SAVEL (J.)

Etude sur la constitution et le métabolisme protéiques d'*Ascaris lumbricoïdes*.

Thèse pharmacie, Paris, 1954.

79. SEELKOPF (K.) et AUTERHOFF (H.)

Versuche zur Auffindung von Wurmmitteln.

Die Pharmazie, 1950, 5, p. 463-467

Cités par CAVIER (13)

80. SCHILL (E.)

Pharmakologische Untersuchungen an Askeriden.

Deut Tropenmed., 1943, 47, p. 105-122

Cité par CAVIER (13)

81. SCHINDLER (O.)

Substanzen mit askarizider Wirkung.

Experimentia, 1946, 2, p. 69-70

Cité par CAVIER (13)

82. SCHNEIDER (A.)

La méthode au Ver de terre pour l'essai de la Santonine et des anthelminthiques voisins.

J. Amer. Pharm. Assoc., 1927, 16, p. 623

Cité par CAVIER (13)

83. SCHROEDER (W.)

Ueber das Pelletierin.

Arch. Exp. Path. Pharmacol., 1884, 18, p. 381-400

Cité par CAVIER (13)

84. SHELTON (R.S.) et coll.

Quaternary ammonium salts as germicides

J. Amer. Chem. Soc., 1946, 68, p. 753

cités par GAUTIER (43)

85. SOLLMANN (T.)

Anthelmintics : Their efficiency as tested on Earthworms.

J. Pharmacol. and Exp. Therap., 1918, 12, p. 129

86. STEWARD (J.S.)

Anthelmintic studies.

Parasitology, 1955, 45 , p. 231-268

87. STRAUB (W.)

Pharmakologische Studien über die Substanzen der filixsäuregruppe.

Arch. für Exp. Path. u. Pharmakol., 1902, 48 , p. 1-30

87 bis. SWARTZWELDER (J.C.) et WICKER (M.F.)

Preliminary drug trials to determine anthelmintic activity against tricocephalus vulpis in dogs.

J. Parasitol, 1948, 34 , p. 30

88. THOMPSON (F.E.) et REINERTSON (J.W.)

Chemotherapeutic studies of natural pinworm injections in mice.

Exp. Parasitol, 1952, 1 , p. 384-391

89. TRENDELENBURG (P.)

Über die Wirkung der Santonins und seiner Derivate auf die Darmmuskulatur, und Bemerkungen zur Wirkung der Oleum Chenopodii.

Arch. f. Exp. Path. u. Pharmakol., 1915, 79 , p. 190-217

Cité par CAVIER (13)

90. TRIM (A.R.)

Experiments on the mode of action of hexylresorcinol as an anthelmintic.

Parasitology, 1944, 35 , p. 209-219

91. VALETTE (G.) CAVIER (R.) DEBELMAS (A.M.)

Action anthelminthique des constituants des essences végétales.

Ann. pharm. fr., 1953, 11 , p. 649-654

92. VANNI (V.) et PEREZ FONTANA (V.)

Nuevo metodo de controlar biologico de los antihelminticos y su aplicacion.

Arch. Soc. Biol. Montevideo, 1948-49, 15 , p. 15-21

Cités par CAVIER (13)

93. VILLAGRAZIA (P.M.)

Dosage biologique sur des Poissons de l'extrait de Filixmas.

Bull. Chim. Pharm., 1947, 86 , p. 243-246

94. WASICKY (R.)

Zur biologischen Wertbestimmung von Filixmas.

Arch. f. Exp. Pathol. u. Pharmacol., 1923, 97 , p. 454-461

95. WELLS (H.S.)

Studies on the effects of antibiotics on infections with mice penworm *Apicularis tetraptera*.

J. Infectious Diseases, 1952, 90 , p. 34-et 110

96. MENZEL (D.G.) et GIBSON (R.D.)

A study of the toxicity and anthelmintic activity of n. butylidene chloride.

J. Pharm. and Pharmacol., 1951, 3 , p. 169-176

97. WHITLOCK (J.H.) et BLISS (C.I.)

A bioassay technique for anthelmintics.

J. Parasitol., 1943, 29 , p. 48-58

Cités par CAVIER (13)

98. WRIGHT (W.H.) et SCHAEFFER (J.W.)

Critical anthelmintic tests of chlorated alkyl hydrocarbons and a correlation between the anthelmintic efficacy, chemical structure and physical properties.

Am. J. Hyg. , 1932, 16 , p. 325-428

Cités par CAVIER (13)

TABLE DES MATIERES

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| AVANT-PROPOS .....                                                   | 1  |
| CHAPITRE I :                                                         |    |
| Ammoniums quaternaires à anions<br>organiques .....                  | 5  |
| 1. Historique .....                                                  | 6  |
| 2. Travaux personnels .....                                          | 13 |
| CHAPITRE II :                                                        |    |
| Méthodes pharmacodynamiques d'essai<br>des anthelminthiques .....    | 21 |
| 1. Historique .....                                                  | 22 |
| 2. Description des techniques utilisées<br>dans nos recherches ..... | 38 |
| CHAPITRE III :                                                       |    |
| Travaux personnels : .....                                           | 45 |
| - Essais "in vitro" sur Rhabditis macrocerca.....                    | 46 |
| - Essais "in vitro" sur l'Ascaris entier .....                       | 54 |
| - Essais "in vitro" sur le segment antérieur d'Ascaris.              | 61 |
| - Essais "in vitro" sur Syphacia obvelata .....                      | 65 |
| CONCLUSIONS .....                                                    | 79 |
| BIBLIOGRAPHIE .....                                                  | 81 |



